

THÈSE

présentée

à l'U.E.R. des Sciences Exactes et Naturelles
à Dominante Recherche de l'Université de Clermont

pour obtenir le grade de

DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES
(Physiologie)

par

Claude LABRID

ETUDE COMPARATIVE DES ACTIVITÉS ANTICHOLINERGIQUES ET ANTISÉCRÉTOIRES GASTRIQUES

Soutenue publiquement le 20 janvier 1975 devant la Commission d'examen

Président : M. P. DELOST, Professeur.

Examineurs : M. P. RAYNAUD, Professeur à l'Université Paul Sabatier
de Toulouse.

M. S. BONFILS, Professeur à la Faculté de Médecine
Xavier Bichat de l'Université Paris VII.

M. P. DUCHÊNE-MARULLAZ, Professeur à la Faculté de
Médecine de Clermont.

M. R. DURAND, Maître de Conférence.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

THÈSE

présentée

à l'U.E.R. des Sciences Exactes
et Naturelles à Dominante Recherche
de l'Université de Clermont

pour obtenir le grade de

DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES
(Physiologie)

par

Claude LABRID

ETUDE COMPARATIVE DES ACTIVITÉS
ANTICHOLINERGIQUES
ET ANTISÉCRÉTOIRES GASTRIQUES

Soutenue publiquement le 20 janvier 1975 devant la Commission d'examen

Président : M. P. DELOST, Professeur.

Examineurs : M. P. RAYNAUD, Professeur à l'Université Paul Sabatier
de Toulouse.

M. S. BONFILS, Professeur à la Faculté de Médecine
Xavier Bichat de l'Université Paris VII.

M. P. DUCHÊNE-MARULLAZ, Professeur à la Faculté de
Médecine de Clermont.

M. R. DURAND, Maître de Conférence.



UNIVERSITE DE CLERMONT

U.E.R. des Sciences Exactes et Naturelles

Année 1974-1975

Président de l'Université : M. KOHLMULLER Robert.

Directeur (Recherche) : M. GUILLAUME Marcel.

Directeur (Enseignement) : M. PETERLONGO Jean-Marc.

PROFESSEURS

- MM. RAMBAUD René. — Chimie Organique.
ROQUES Maurice. — Géologie.
LAPADU-HARGUES Pierre. — Minéralogie.
LUTZ Hubert. — Biologie Animale.
RAOULT Gaston. — Optique Physique Atomique et Moléculaire.
CHAMPAGNAT Paul. — Physiologie Végétale.
DUPLESSIS-KERGOMARD Alain. — Chimie Organique.
Mme HENNEQUIN Françoise. — Mathématiques Pures.
Mlle BERTHET Ginette. — Physique Electronique.
MM. LOISEAU Jean. — Biologie et Physiologie Végétales.
COMBE René. — Physique du Solide et Cristallographie.
DE PUYTORAC Pierre. — Zoologie.
Mme AVAN Madeleine. — Physique Nucléaire et Corpusculaire.
Mlle DONDON Marie-Louise. — Chimie Physique.
MM. DELOST Paul. — Physiologie Animale.
VIALARD André. — Chimie Physique.
KOHLMULLER Robert. — Chimie Minérale.
GUILLAUME Marcel. — Algèbre.
COMBE Jean. — Physique Nucléaire et Corpusculaire.
HENNEQUIN Paul. — Mathématiques Appliquées.
VINCENT Pierre. — Volcanologie.
VESSIERE Roger. — Chimie Organique.
BAILLAUD Lucien. — Biologie et Physiologie Végétales.
JOYON Louis. — Biologie I.U.T. Clermont.
PETERLONGO Jean-Marc. — Géologie.
ISABELLE Didier. — Physique Nucléaire et Corpusculaire.
SOULAGE René. — Géophysique.
LEMAIRE Jacques. — Chimie Physique.
ACCARY André. — Métallurgie C.U.S.T.
BADRIKIAN Albert. — Mathématiques Appliquées.
MARTINET Pierre. — Chimie Organique.
ACKERMANN Patrick. — Electronique automatique C.U.S.T.

PROFESSEUR ASSOCIE

- M. ROCOS Pantellis. — Mathématiques Pures C.U.S.T.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

- Mlle DUCHER Suzanne. — Chimie Organique.
MM. BATHIER Marcel. — Physique du Solide et Cristallographie.
CAPESTAN Michel. — Chimie Minérale.
FALGAS Maurice. — Mathématiques Pures.
MAISONNEUVE Jacques. — Géologie.
ROCHE Jean. — Physique I.U.T. Clermont.
LENOIR Marcel. — Mathématiques Pures.
THOMAS Jean. — Optique Physique Atomique et Moléculaire.
COURDUROUX Jean-Claude. — Biologie et Physiologie Végétales.
DRAGESCO Jean. — Biologie Animale.
GRAIN Jean. — Zoologie et Biologie Cellulaire.

LEVY Philippe. — Physique I.U.T. Montluçon.
 PRORIOI Joseph. — Physique I.U.T. Montluçon.
 ROCHE Guy. — Physique Nucléaire et Corpusculaire.
 TEMPIER Paul. — Géologie.
 DUFASURE Jean-Pierre. — Cytophysiologie.
 FANGUIN René. — Physique I.U.T. Clermont.
 LARPENT Jean-Paul. — Microbiologie Appliquée C.U.S.T.
 COUSSEINS Jean-Claude. — Chimie Minérale.
 NIGOND Jacques. — Agronomie I.U.T. Clermont.
 VELLE Georges. — Psychophysiologie.

MAITRES DE CONFERENCES

Mme BESSERRE Anne-Marie. — Mathématiques Pures.
 MM. JEAN Claude. — Physiologie comparée et endocrinologie.
 MIGNOT Jean-Pierre. — Zoologie.
 FONDEVILLE Jean-Claude. — Biologie et Physiologie Végétales.
 CHADEYRAS Marcel. — Mathématiques Pures.
 BOILLAT Guy. — Mathématiques Pures.
 CADORET Robert. — Physique du Solide et Cristallographie.
 BESSERRE Daniel. — Spectroscopie C.U.S.T.
 LHOMME Jean. — Chimie des Substances Naturelles C.U.S.T.
 IMBAUD Jean-Pierre. — Physique Electronique.
 MERCIER Michel. — Physique I.U.T. Montluçon.
 AUSLENDER Alfred. — Mathématiques Appliquées.
 GRAMAIN Jean-Claude. — Chimie et Biochimie des Substances Naturelles.
 DUCATEAU Charles. — Mathématiques Appliquées I.U.T. Clermont.
 DURAND Roger. — Biochimie C.U.S.T.
 HADDAD Labib. — Mathématiques Pures.
 IRIGARAY Jean-Léon. — Physique I.U.T. Clermont.
 BREGLIANO Jean-Claude. — Génétique.
 FONTAINE Jacques. — Génie Electrique C.U.S.T.
 HUGON Lionel. — Physique I.U.T. Montluçon.
 KORNPROBST Jacques. — Géologie.
 LE THANH PHONG. — Mathématiques Pures.
 QUERROU Michel. — Physique Nucléaire et Corpusculaire.
 SCHNEIDER Michel. — Informatique C.U.S.T.
 YOUNES Antoine. — Biochimie I.U.T. Clermont.

MAITRE DE CONFERENCE ASSOCIE

M. COFFI-NKETSIA Barben. — Mathématiques Pures.

SECRETAIRE GENERALE DE L'UNIVERSITE

Mme CHOPART.

Monsieur le Professeur P. DELOST

Professeur de Physiologie animale à l'U.E.R.
des Sciences Exactes et Naturelles
de l'Université de Clermont-Ferrand,
Directeur de l'Equipe associée au C.N.R.S.
(Endocrinologie du Développement),

*nous a fait l'honneur d'accepter de présider
notre jury. Il nous a conseillé pour la mise
en forme définitive du mémoire.*

*Qu'il agrée l'expression de notre très
respectueuse gratitude.*

Monsieur le Professeur P. DUCHÊNE-MARULLAZ

Professeur de Pharmacologie médicale
à la Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand,
Biologiste des Hôpitaux,
Directeur de l'Institut de Recherches cardiologiques de Royat,

*nous lui devons tout à la fois le plaisir d'ef-
fectuer un passionnant travail de recherche,
puisqu'il nous a accueilli au C.E.R.M., la
découverte de la pharmacologie puisqu'il a
guidé nos premiers pas en ce domaine, et
l'orientation de ces travaux, puisqu'il nous
a constamment guidé, conseillé, aidé.*

*Qu'il trouve ici le témoignage de notre
profonde gratitude et l'assurance de notre
respectueux dévouement.*

Monsieur le Professeur S. BONFILS

Professeur à la Faculté de Médecine Xavier Bichat
de l'Université Paris VII,
Directeur de l'Unité de Recherches de Gastro-entérologie,
U-10, I.N.S.E.R.M.,
Chef du Service de Gastro-entérologie B de l'Hôpital Bichat,

nous a accueilli avec bienveillance dans son laboratoire pour nous initier aux techniques expérimentales d'étude de la sécrétion gastrique. Par la suite, c'est grâce à l'intérêt qu'il a manifesté pour nos recherches, à son aide, à ses suggestions, que ce travail a pu être accompli dans les meilleures conditions.

Qu'il soit assuré de notre respectueuse admiration et de notre profond attachement.

Monsieur le Professeur P. RAYNAUD

Professeur de Physiologie animale,
à l'Université Paul Sabatier de Toulouse,
Directeur de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique
de Toulouse,

nous fait l'honneur de siéger à notre jury.

Qu'il veuille bien accepter l'expression de notre reconnaissance.

Monsieur R. DURAND

Maître de Conférence à l'U.E.R. des Sciences Exactes
et Naturelles
de l'Université de Clermont-Ferrand,

a bien voulu juger notre travail; nous lui en sommes très reconnaissant.

Monsieur R. Y. MAUVERNAY

Président Fondateur du C.E.R.M.,

sans son acceptation, sa foi dans la recherche, rien n'aurait pu être entrepris. Sa marque de confiance a constitué une motivation permanente.

Qu'il veuille bien accepter l'expression de notre vive gratitude.

Messieurs A. LE RIDANT puis G. STREICHENBERGER

Directeurs généraux du C.E.R.M.,

ont bien voulu que le chercheur oriente ses travaux dans une voie personnelle. Ils ont, tour à tour, facilité en tout point la réalisation de cette thèse, nous ont aidé de leurs conseils, nous ont apporté leur soutien.

Qu'ils en soient très vivement remerciés.

Dans une époque où l'expérimentateur ne peut plus affronter seul ses problèmes de recherches, il serait illusoire de penser qu'une thèse puisse être constituée sans l'aide permanente d'une équipe. Le présent travail est donc aussi bien le travail de cette équipe. Nous tenons, en souvenir de ces années d'amicale collaboration, à dédier le résultat de notre effort commun à :

Madame S. BONFILS

*à qui la section de gastro-entérologie du
C.E.R.M. doit la mise en œuvre de délicates
techniques chirurgicales.*

L'équipe de chercheurs de l'Unité de Recherches de Gastro-entérologie (U 10) de l'I.N.S.E.R.M. (Professeur S. BONFILS), et tout particulièrement :

Marcelle DUBRASQUET

Maître de Recherche à l'I.N.S.E.R.M.,

Michel MIGNON

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris,

Miguel LEWIN

Chargé de Recherche à l'I.N.S.E.R.M.,

Jean-Pierre ACCARY

Chargé de Recherche à l'I.N.S.E.R.M.,

*nous leur devons notre apprentissage des
techniques de la gastro-entérologie expé-
rimentale, les critiques les plus constructives,
les conseils les plus éclairés; en un mot,
l'aide la plus efficace qui puisse être.*

Georges DURENG

*que nous avons toujours connu à nos côtés,
pour toutes les mises au point de techniques
nouvelles comme pour tous les travaux de
statistique; nous lui devons beaucoup.*

Jacqueline BAISSAT, Mireille BASIEZ, Hélène BERT et Chantal BOERO
Techniciennes supérieures,

Bernadette GELINOT, Martine BARRAULT et Marie-Claude CHADUC
Techniciennes,

*qui ont contribué, avec dévouement et dexté-
rité, à la réalisation du travail expérimental.*

Monique STEVENARD

*qui a assuré la recherche des éléments de
la documentation scientifique.*

Jacques MOLEYRE

*conseiller de chaque instant qui a su jouer
avec des ressources didactiques innées, pour
nous apporter un éclairage nouveau dans le
domaine de la chimie.*

Jean TACHON

*qui s'est chargé de tous les dosages d'activité
protéolytique.*

René BONDIVENNE

*qui a procédé à quelques identifications par
des techniques de chromatographie.*

Jean LAMBERT

*qui a supervisé le travail de traitement sta-
tistique des résultats et la mise au point des
plans expérimentaux.*

Ginette RISPAT

qui a vérifié l'absence d'effets ganglioplégiques chez certains des composés utilisés.

Jacques TALVARD et André MADEUF

qui nous ont guidé dans l'utilisation de divers appareillages et ont réalisé toutes les adaptations techniques sans lesquelles nos études de pharmacologie moléculaire auraient beaucoup perdu.

Annie MEUNIER

qui a concrétisé, avec talent, la plus grande partie de l'iconographie du mémoire.

Barbara BORDES

qui a assuré la dactylographie et la présentation du texte.

Nicolas MORENO et son Service

qui ont réalisé une grande partie du matériel utilisé.

Marie-Hélène PEREFACI

qui a effectué les clichés de l'illustration photographique.

Qu'ils soient tous remerciés de leur aide; ce travail est aussi le leur.

ETUDE COMPARATIVE
DES ACTIVITÉS ANTICHOLINERGIQUES
ET ANTISÉCRÉTOIRES GASTRIQUES

par
Claude LABRID

Travail réalisé au C. E. R. M., route de Marsat, 63201 RIOM

Directeur : Docteur G. Streichenberger

SOMMAIRE

INTRODUCTION	7
I. — RAPPEL DES PRINCIPALES METHODES D'EVALUATION DES ACTIVITES ANTICHOLINERGIQUES ET ANTISECRETOIRES DES SUBSTANCES PARASYMPATHOLYTIQUES	11
I.A. Les anticholinergiques et leur action antisécrétoire	13
I.A. ₁ . L'acétylcholine et les substances anticholinergiques : généralités	13
I.A. ₂ . L'atropine et ses homologues ternaires	15
I.A. ₃ . Les composés à groupement ammonium quaternaire dérivés de l'atropine et de la scopolamine	17
I.B. Méthodes d'évaluation, in vitro, d'une activité anticholiner- gique	19
I.B. ₁ . Organes utilisés	19
I.B. ₂ . Principaux agonistes cholinomimétiques utilisés pour les études in vitro	20
I.B. ₃ . Principes d'évaluation de l'activité antagoniste : expression des résultats	22
I.C. Techniques d'évaluation d'une activité antisécrétoire chez le Chien et le Rat	25
I.C. ₁ . Exigences méthodologiques et techniques expérimen- tales générales	25
I.C. ₂ . Techniques d'étude de la sécrétion gastrique consécu- tive à la stimulation vagale	27
I.C. ₃ . Techniques d'étude de la sécrétion gastrique consécu- tive à la libération de gastrine antrale	32
I.C. ₄ . Techniques d'étude de la sécrétion gastrique du rat vigile excluant l'utilisation d'un stimulus pharmaco- logique	33
II. — TECHNIQUES EXPERIMENTALES	37
II.A. Choix des substances, des conditions expérimentales et des techniques générales	39
II.A. ₁ . Choix des substances utilisées	39

II.A. ₂ , Choix des conditions expérimentales	40
II.A. ₃ , Choix des techniques générales	41
II.A. ₃₋₁ , Solutions diverses utilisées	41
II.A. ₃₋₂ , Techniques de recueil et de dosage des sécrétions	43
II.A. ₃₋₃ , Conditions générales de réalisation des montages opératoires chez le Chien	43
II.A. ₃₋₄ , Méthodes de traitement statistique des résultats	46
II.B. Techniques d'évaluation, in vitro, du type et de l'intensité de l'activité anticholinergique	46
II.B. ₁ , Protocole expérimental de détermination, in vitro, des paramètres définissant l'interaction agoniste-antagoniste au niveau des récepteurs cholinergiques périphériques	47
II.B. ₂ , Etalonnage de la technique par expérimentation des substances agonistes	48
II.B. ₃ , Critique de la méthode utilisée	53
II.C. Techniques d'étude de la réponse sécrétoire gastrique consécutive à une stimulation vagale	54
II.C. ₁ , Recherche d'une activité antisécrétoire chez le Rat porteur d'une fistulisation gastrique permanente et subissant une stimulation vagale insulinique	54
II.C. ₁₋₁ , Protocole expérimental	54
II.C. ₁₋₂ , Etalonnage de la technique	56
II.C. ₁₋₃ , Critique de la technique choisie	58
II.C. ₂ , Recherche d'une activité antisécrétoire chez le Chien porteur d'une fistulisation gastrique permanente et subissant une stimulation vagale insulinique	60
II.C. ₂₋₁ , Protocole expérimental	60
II.C. ₂₋₂ , Etalonnage de la technique	62
II.C. ₂₋₃ , Discussion de la technique choisie	68
II.C. ₃ , Recherche d'une activité antisécrétoire chez le Chien porteur d'une fistulisation gastrique permanente et subissant une stimulation vagale par le 2-DDG	69
II.C. ₃₋₁ , Protocole expérimental	69
II.C. ₃₋₂ , Etalonnage de la technique	70
II.C. ₃₋₃ , Discussion de la technique choisie	73
II.D. Techniques d'étude de l'inhibition de la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain consécutive à une stimulation antrale, par introduction préalable d'anticholinergiques dans la poche antrale	73
II.D. ₁ , Protocoles expérimentaux	74
II.D. ₁₋₁ , Montage opératoire	74
II.D. ₁₋₂ , Etalonnage de la réponse sécrétoire de la poche fundique à une stimulation directe.. ..	90
II.D. ₁₋₃ , Technique de stimulation de la poche antrale	93
II.D. ₂ , Etalonnage de la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain à la stimulation topique de la zone antrale isolée	96
II.D. ₃ , Discussion de la technique	99

II.E. Techniques d'étude de la sécrétion gastrique du Rat excluant l'utilisation d'un stimulant pharmacologique	101
II.E. ₁ . Détermination de l'inhibition de la sécrétion gastrique consécutive à l'administration d'un anticholinergique, chez le Rat à pylore lié	101
II.E. ₁₋₁ . Protocole expérimental	101
II.E. ₁₋₂ . Etalonnage de la technique	102
II.E. ₁₋₃ . Critique de la technique	103
II.E. ₂ . Détermination de l'inhibition de la sécrétion gastrique consécutive à l'administration d'un anticholinergique chez le Rat contraint, porteur d'une fistule transduodéno-pylorique	104
II.E. ₂₋₁ . Protocole expérimental	104
II.E. ₂₋₂ . Etalonnage de la technique	105
II.E. ₂₋₃ . Critique de la technique	107
III. — RESULTATS DE LA DETERMINATION COMPARATIVE DES ACTIVITES ANTICHOLINERGIQUE ET ANTISECRETOIRE DE L'ATROPINE ET DES N-METHYL ET N-BUTYL SCOPOLAMMONIUMS	109
III.A. Activité anticholinergique (déterminée in vitro)	111
III.A. ₁ . Exemples de courbes doses-réponses enregistrées...	111
III.A. ₂ . Calcul des paramètres d'affinité pour les récepteurs cholinergiques	114
III.A. ₂₋₁ . Agoniste utilisé : acétylcholine	114
III.A. ₂₋₂ . Agoniste utilisé : furtréthonium	122
III.A. ₂₋₃ . Agoniste utilisé : carbachol	126
III.A. ₃ . Echelle d'activités anticholinergiques relatives, déterminée in vitro pour l'atropine, les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums	131
III.B. Activité antisécrétoire	135
III.B. ₁ . Inhibition de la réponse sécrétoire du Rat (porteur d'une fistulisation gastrique permanente) consécutive à une stimulation insulinique	135
III.B. ₂ . Inhibition de la réponse sécrétoire du Chien (porteur d'une fistulisation gastrique permanente) consécutive à une stimulation insulinique	142
III.B. ₃ . Inhibition de la réponse sécrétoire du Chien (porteur d'une fistule gastrique permanente) consécutive à une stimulation par le 2-DDG	152
III.B. ₄ . Inhibition, chez le Chien, de la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain à la stimulation de la poche antrale énercée	166
III.B. ₄₋₁ . Stimulation de la zone antrale par une solution de glycine	166
III.B. ₄₋₂ . Stimulation de la zone antrale par une solution tampon à pH 9,2	181
III.B. ₅ . Détermination de l'activité antisécrétoire chez le Rat à ligature pylorique	193
III.B. ₆ . Détermination de l'activité antisécrétoire chez le Rat à fistulisation transduodéno-pylorique	196

IV. — DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS	199
IV.A. Synthèse générale des résultats	201
IV.A. ₁ . Récapitulation comparative de tous les résultats obtenus	201
IV.A. ₂ . Comparaisons des résultats obtenus, dans leur ensemble, avec les résultats enregistrés dans d'autres situations expérimentales	203
IV.A. ₃ . Mise en évidence de parallélisme et de divergences entre les résultats enregistrés dans les diverses situations expérimentales	204
IV.B. Critique générale des résultats	206
IV.B. ₁ . L'imprécision et la fluctuation des résultats, conséquences de l'imperfection des techniques	206
IV.B. ₂ . Le caractère arbitraire du choix des paramètres permettant d'apprécier les diverses activités explorées.	208
IV.B. ₃ . Détermination des activités antisécrétoires : les difficultés d'interprétation des résultats enregistrés dans chaque situation expérimentale	209
IV.C. Parallélismes et divergences entre les activités anticholinergiques et antisécrétoires : discussion des différentes hypothèses explicatives	221
IV.C. ₁ . Equipement en récepteurs muscariniques différents selon les espèces ou selon les effecteurs biologiques.	221
IV.C. ₂ . Récepteur muscarinique unique mais dont les caractéristiques de cooptation avec les substances pharmacologiques seraient modifiées selon la situation expérimentale	226
IV.C. ₃ . Activité antisécrétoire indépendante de l'activité anticholinergique, et complétant celle-ci pour entraîner une activité antisécrétoire globale	226
IV.C. ₄ . Différences des métabolismes de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums expliquant les divergences d'activité observées in vivo	230
IV.C. ₅ . Aptitudes différentes selon les substances anticholinergiques, à franchir les barrières biologiques, et à se concentrer dans la « biophase sécrétoire »	232
CONCLUSIONS GENERALES	233
RESUME	239
BIBLIOGRAPHIE	241

INTRODUCTION

Les « antisécrétoires anticholinergiques » constituent une classe de substances pharmacologiques essentiellement utilisées en thérapeutique pour réduire l'hypersecrétion gastrique.

« Antisécrétoires » et « anticholinergiques » sont deux termes qui se trouvent souvent utilisés indifféremment; ceci semble impliquer une stricte équivalence entre ces deux propriétés, sinon l'existence d'une relation de cause à effet : les substances sont antisécrétoires parce qu'elles sont anticholinergiques... ce qui laisse à penser qu'elles modèrent le débit sécrétoire proportionnellement à leur potentialité anticholinergique intrinsèque. Il apparaît, en fait, qu'un tel parallélisme peut être contesté.

L'importance accordée aux propriétés antisécrétoires des anticholinergiques ne doit pas faire négliger les autres propriétés pharmacologiques de ces substances. Après administration de parasympholytiques, les glandes exocrines voient leur sécrétion diminuer et l'assèchement salivaire demeure le corollaire constant du tarissement des sécrétions gastriques. Outre la cellule glandulaire, les vagolytiques intéressent également l'innervation de la fibre musculaire lisse (entraînant à la fois l'atonie des parois des organes creux, la dépression de la motilité digestive, la mydriase, la levée du spasme bronchique, lorsqu'il est de nature cholinergique, et un dysfonctionnement sphinctérien) et la fréquence cardiaque (provoquant une tachycardie par disparition du frein vagal).

La diversité des propriétés pharmacologiques qui vient d'être évoquée a souvent été l'occasion de travaux scientifiques comparatifs, au cours desquels les chercheurs ont organisé leur plan expérimental, en fonction de deux voies principales.

Les uns cherchent à évaluer, chez l'animal, le seuil d'apparition des différentes manifestations des propriétés anticholinergiques d'une substance ou d'une série de substances. Ces auteurs constatent, parfois, la variabilité du niveau de ces seuils de sensibilité et de la relation dose-réponse biologique, selon l'organe considéré. Pourtant, en 1958, Bachrach établit un bilan général sur les expérimentations antérieures et en déduit qu'il n'existe aucune preuve d'un quelconque effet sélectif des anticholinergiques sur la sécrétion gastrique. Ces conclu-

sions s'opposent radicalement à celles qui avaient été développées deux années auparavant par Kao Hwang (1956), selon lequel ces mêmes substances pourraient exercer des actions sélectives sur des fonctions cholinergiques particulières, notamment à faibles doses ; cette notion fut reprise ultérieurement dans de nombreux travaux, parmi lesquels ceux de Goldberg & Rossi (1960), Dotevall & al. (1964), Posey & al. (1965), Brodie (1966 b), Kubin & al. (1967), Alphin & Ward (1967), Lick & al. (1967), Domino & Corssen (1967), Goldenberg & Burns (1968). Les études comparatives qui y sont reportées concernent les activités antisécrétoires, mydriatiques, dépressives de la motilité intestinale ou de la vidange gastrique. Parfois, ce sont les activités antisécrétoires, mesurées au niveau de différentes glandes exocrines, ou de différents types cellulaires d'une même glande, qui sont comparées, après usage de divers stimulants pharmacologiques. Ou bien encore, se trouvent rapprochées l'activité antisécrétoire et la protection exercée vis-à-vis de l'ulcération gastro-duodénale.

Les autres types de recherches s'adressent toujours à des séries chimiques homogènes ou, tout au moins, à des composés dont les structures chimiques présentent quelques points communs. Par le biais d'un classement effectué en fonction des potentialités relatives des substances, elles visent souvent à l'établissement de relations entre la structure chimique et une activité pharmacologique donnée. Cette dernière peut être l'activité antisécrétoire gastrique (Kirsner & al., 1953; Shea, 1956; Brown & Turner, 1963), la dépression de la motilité digestive (Brodie & Kundraats, 1965), l'activité spasmolytique au niveau de la vessie (Bauer & Wick, 1969) ou l'antagonisme, exercé, *in vitro*, à l'égard d'un cholinomimétique (Barlow & al., 1963; Paton & Rang, 1965; Paton, 1967; Hudgins & Stubbins, 1969; Stubbins & al., 1968; Abramson & al., 1969).

Pourtant, lorsque l'étude s'applique plus particulièrement à la sécrétion gastrique, il paraît important de ne pas considérer l'état sécrétoire comme une entité bien définie et immuable, mais de tenir compte de la plus ou moins grande participation vagale à la stimulation finale. Ainsi, le degré d'antagonisme exercé par un antisécrétoire anticholinergique, dans une situation expérimentale donnée paraît très dépendant du choix des conditions de travail.

D'un autre côté, la comparaison de l'activité antisécrétoire avec l'activité anticholinergique devrait s'appuyer systématiquement sur la détermination rigoureuse du type d'antagonisme qui préside aux relations de la substance étudiée avec le médiateur biologique impliqué dans ces phénomènes. Or, la vérification que les substances anticholinergiques utilisées dans le domaine de la sécrétion gastrique exercent bien un antagonisme compétitif pur, vis-à-vis de l'acétylcholine, n'a été faite que pour quelques-unes d'entre elles...

L'objet de notre travail concerne l'étude comparative des activités anticholinergiques et antisécrétoires gastriques de trois substances parasympholytiques : l'atropine, les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums.

Ce choix réunit un produit de référence indiscutable dans la classe des anticholinergiques, l'atropine, et deux dérivés de la scopolamine, les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums. Ces substances ont été retenues pour leur parenté structurale qui n'exclut pas, toutefois, des divergences chimiques notables, puisque l'on trouve, à côté d'une amine tertiaire deux ammoniums quaternaires.

Nous avons établi le plan expérimental suivant :

1) *Etude de l'activité anticholinergique de chacune des substances.*

Cette étude est réalisée in vitro, sur l'intestin isolé de Rat et de Chien, et donc à l'abri des multiples interférences qui se manifestent dans l'organisme entier. Elle permet de déterminer une échelle de potentialités vagolytiques de référence.

2) *Etude de leur activité antisécrétoire.*

Cette étude est conduite chez deux espèces animales — Le Rat et le Chien — dans des conditions expérimentales sélectives. Les substances sont administrées à des doses respectant les proportions de l'échelle d'équi-activité anticholinergique définie in vitro.

La finalité de cette recherche ne saurait être assimilée à une tentative d'étude exhaustive d'un antisécrétoire. Ainsi, le souci de démonstration de l'efficacité thérapeutique des substances, a été complètement étranger aux motivations scientifiques du travail.

I - RAPPEL DES PRINCIPALES MÉTHODES
D'EVALUATION DES ACTIVITÉS
ANTICHOLINERGIQUES ET ANTISÉCRÉTOIRES
DES SUBSTANCES PARASYMPATHOLYTIQUES

I.A. — LES ANTICHOLINERGIQUES ET LEUR ACTION ANTISECRETOIRE.

I.A.₁ — L'ACÉTYLCHOLINE ET LES SUBSTANCES ANTICHOLINERGIQUES : GÉNÉRALITÉS.

L'acétylcholine, qui se trouve libérée dans l'organisme à quatre niveaux distincts, manifeste deux types différents d'activités. La nicotine et la muscarine exercent, de façon complémentaire, une partie seulement de l'action globale de l'acétylcholine, et les expressions « effets nicotiniques » ou « effets muscariniques » sont désormais consacrées par l'usage. C'est ainsi que l'acétylcholine, comme la nicotine, peut agir au niveau des synapses du système nerveux central, des synapses ganglionnaires et de la plaque motrice des muscles striés. Les pharmacologues, les biochimistes et les biologistes ont déterminé les caractéristiques du type de récepteurs « nicotiniques », communs à ces différents sites.

Mais l'acétylcholine, comme la muscarine, peut aussi induire l'apparition d'un stimulus au niveau des synapses du système nerveux central et des terminaisons des fibres nerveuses post-ganglionnaires du système parasympathique, par la formation d'un complexe avec un type de récepteurs « muscariniques » différents des premiers. La stimulation des cellules glandulaires de l'estomac constitue l'une des manifestations de l'activité « muscarinique » de l'acétylcholine, et cela explique l'intérêt que l'on apportera, dans le travail, à la détermination de l'activité « antimuscarinique » des substances utilisées.

Dans tout ce qui suit, nous désignerons, indifféremment, selon l'usage, l'inhibition des effets de la stimulation des fibres parasympathiques post-ganglionnaires ou l'inhibition de l'action directe de substances cholinomimétiques sur des effecteurs périphériques, par les termes « d'action anticholinergique », « antimuscarinique », « parasympatholytique », « cholinolytique », « vagolytique ».

Innes & Nickerson (1970) ont établi une revue générale récente concernant ces substances qui inhibent l'action de l'acétylcholine sur les structures innervées par les fibres parasympathiques post-ganglionnaires; on peut y relever quelques éléments qui, dans l'optique de cette étude, apparaissent particulièrement intéressants.

Ainsi faut-il rappeler que si les antagonistes muscariniques n'ont parfois que des propriétés antinicotiniques très faibles — voire même

inexistantes — cela n'est plus vrai pour des doses élevées d'atropine ou de certains de ses substituts de synthèses. Il peut être alors difficile de définir avec précision la contribution du blocage ganglionnaire partiel aux effets globaux de ces substances.

D'un autre côté, selon les mêmes auteurs, *toutes les jonctions neuro-effectrices du système parasympathique ne sont pas également sensibles aux agents antimuscariniques*. Si l'ordre de sensibilité varie peu, d'un composé à l'autre, les potentialités relatives sur les divers systèmes organiques sont très différentes. De faibles doses d'anticholinergiques de ce type commencent toujours par déprimer les sécrétions sudorales, bronchiques et celles des glandes salivaires. Mais, assez paradoxalement, de très faibles concentrations d'atropine entraînent des effets bradycardisants. Avec des doses un peu plus élevées, la mydriase et la tachycardie apparaissent. Il faut encore augmenter les quantités administrées pour inhiber le contrôle parasympathique de la miction, du tonus et de la motilité du tractus digestif. Enfin, ce ne sont que des doses importantes qui diminueront la sécrétion gastrique.

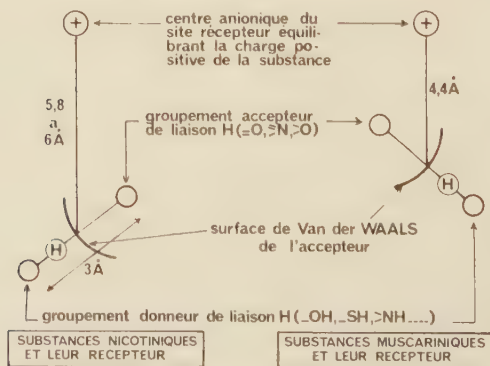
S'est imposée peu à peu l'existence de caractères structuraux communs à tous les antimuscariniques. Les travaux de Beers & Reich (1970) apportent d'intéressantes précisions sur ce point.

Les auteurs considèrent que l'interaction entre les substances cholinergiques et leurs récepteurs se réalise par l'intermédiaire de deux groupes fonctionnels, et non pas trois, contrairement aux hypothèses antérieures (Beckett, 1967; Bowman & al., 1968). Pour ce qui concerne plus particulièrement le *récepteur muscarinique*, le diagramme des forces impliquées dans la relation substance-récepteur comporte un *centre anionique* — qui équilibre la charge positive de la substance antimuscarinique — et un *groupe donneur de liaison H*, comportant donc une paire d'électrons non appariés. Une distance de 4,4 Å sépare ces deux zones; cette distance semble capitale puisqu'elle est commune, à la fois, à l'acétylcholine — dans sa configuration « muscarinique » — et aux substances anticholinergiques qui bloquent les actions muscariniques du médiateur biologique (figure 1).

FIGURE 1

Diagrammes représentant l'interaction entre les substances cholinergiques et leurs récepteurs

Beers W.H., Reich E. (1970)



La structure de différentes molécules cholinergiques (agonistes ou antagonistes) a été dessinée à l'échelle, sur un plan défini par le centre de la charge cationique, la région supposée acceptrice de liaison hydrogène, et un point de la surface de van der Waals de l'accepteur. Quand le groupement accepteur est un carbonyle, ce point est l'intersection de la ligne $> C = O$ avec la surface de van der Waals. Sachant que la distance entre les groupes donneurs et accepteurs de liaison hydrogène est de 3 Å, on positionne alors le groupe donneur de liaison H, appartenant au récepteur.

Il s'agit là d'un dénominateur commun qui permet de mieux imaginer comment des substances aussi différentes que les dérivés de la choline, de l'atropine, de la scopolamine, de la muscarine et de nombreux composés qui ne présentent pas de ressemblances structurales évidentes avec les alcaloïdes antimuscariniques (Pierce, 1960) peuvent exercer, entre elles, une interférence compétitive pour la formation de complexes avec les structures réceptrices.

Enfin, pour en terminer avec le rappel de ces quelques points particuliers de la pharmacologie des substances anticholinergiques, on peut, selon Mignon & Bonfils (1971) essayer de concevoir quels sont leurs possibles moyens d'action antisécrétoire gastrique. Il y a, tout d'abord, la dépression de la transmission terminale des influx vagues, tant au niveau des cellules fundiques que des cellules antrales, par antagonisme avec l'acétylcholine libérée. Mais il faut penser également à l'atténuation de l'effet local des sécrétagogues, par une application antrale qui réduirait la libération de gastrine.

I.A.₂ — L'ATROPINE ET SES HOMOLOGUES TERNAIRES.

Il paraît superflu de s'étendre sur les généralités relatives à ces alcaloïdes extraits des solanacées que sont l'atropine, l'hyoscyamine et l'hyoscyne ou scopolamine.

Pour affirmer la correspondance structurale avec les généralités développées ci-dessus à propos des substances antimuscariniques, le schéma de Beers & Reich (1970) a été reporté sur la figure 3, p. 43. La distance qui sépare l'atome d'azote et la zone de réalisation d'une liaison hydrogène (entre l'éther-oxyde et un accepteur d'électrons) se trouve située dans une marge étroite autour de 4,4 Å. Maengwyn-Davies & Oroszlan (1967) avaient précédemment justifié la conformation « chaise » telle qu'elle est représentée sur la figure 3.

Cette correspondance « idéale » entre la structure de l'atropine et les exigences théoriques formulées par Beers & Reich (1970) pour que soit envisagée la probabilité d'un antagonisme compétitif de l'acétylcholine, a constitué un argument de valeur contre l'éventualité d'un mécanisme d'interaction non compétitive de l'atropine au niveau des récepteurs muscariniques. En effet, il avait pu apparaître (van Rossum, 1962) que, d'une façon générale, les dérivés azotés ternaires étaient plutôt des anticholinergiques non compétitifs. Pour des substances à potentialité très élevée, comme l'atropine, cette composante non compétitive, bien que réelle, serait demeurée masquée. A cette éventualité, Mackay (1966 b) propose une alternative puisque ses résultats indiquent que l'atropine pourrait aussi bien être un antagoniste pseudo-irréversible, déplace très lentement de sa complexation avec le récepteur par un agoniste.

Maengwyn-Davies & Oroszlan (1967) confirment cette dernière hypothèse et précisent que des modifications tissulaires irréversibles surviennent après une première administration des esters de la trophine sur une préparation isolée. La formation d'un complexe irréversible entre l'atropine et les protéines réceptrices se réalise. C'est ce changement irréversible des constituants cellulaires qui simulerait une inhibition non compétitive de l'acétylcholine : l'effet d'une première dose d'atropine paraît ainsi toujours plus efficace (relativement) que les suivantes; d'autre part, les difficultés de la dissociation du complexe formé confèrent, apparemment, à l'antagonisme, un caractère insurmontable, donc non compétitif. Les auteurs confirment ainsi la réalité de l'interaction de l'atropine et de l'acétylcholine au niveau des récepteurs cholinergiques, bien que le comportement apparent, à l'examen du résultat expérimental, soit celui d'un antagonisme dualiste à la fois compétitif et non compétitif. Les résultats obtenus par Henderson & al. (1968 a et b); Takagi & al. (1968), Takagi & al. (1970) vont dans le même sens.

Une autre particularité intéressante de l'interaction de l'atropine avec l'acétylcholine mérite d'être signalée : ce sont les effets potentialisateurs paradoxaux des deux substances, qui apparaissent à très faibles concentrations d'atropine (Arunlakshana & Schild, 1959) et confèrent alors à cet anticholinergique un caractère... cholinomimétique! Après que Mitchell (1963) eût démontré que la scopolamine, comme l'atropine, augmente à faibles doses, de dix à cent fois la libération d'acétylcholine au niveau cérébral, Barbot (1964) a recherché et mis en évidence une activité comparable pour certains autres spasmolytiques. Cette activité paradoxale pourrait être entraînée par une altération des sites de stockage de l'acétylcholine, avec accroissement momentané de la libération de l'acétylcholine qui s'y trouve stockée (Holmsted, 1967).

Si l'on considère, enfin, *la recherche d'une relation entre l'activité anticholinergique de l'atropine et l'intensité de l'inhibition qu'elle exerce à l'égard de la sécrétion gastrique*, on est surpris de constater que ce sujet n'a fait l'objet, jusqu'au début de ce travail, d'aucune publication utilisant les paramètres relatifs à l'affinité pour les récepteurs cholinergiques. Aussi faut-il remonter à des travaux plus anciens, comme la thèse de Lieber (1957), pour rencontrer des hypothèses originales qui proposent un mécanisme d'action antisécrétoire de l'atropine et une explication du *non-parallélisme souvent observé entre les intensités des actions de cette substance sur divers organes*.

Cet auteur note que la *spécificité d'action antisécrétoire de l'atropine* — comparativement à celle d'autres anticholinergiques — ne se manifeste pas seulement pour la sécrétion post-insulinique, mais aussi pour la sécrétion post-histaminique. Il pense que cela postule en faveur d'une *action directe de l'atropine sur les cellules gastriques*, sans interférence avec l'acétylcholine. Ainsi, l'inhibition de la sécrétion post-insulinique serait due, bien sûr, au pouvoir vagolytique des substances atropiniques, mais se surajouterait une action antisécrétoire distincte qui n'évoluerait pas parallèlement à l'activité anticholinergique.

A propos de cette inhibition de la sécrétion post-histaminique, sur laquelle s'appuie la démonstration de Lieber, Code (1951) avait calculé qu'elle était relativement faible puisqu'elle ne dépasse pas 25 p. 100 chez le chien à poche de Heidenhain. Auparavant, Robertson & Grossman (1948) expliquaient que la sécrétion post-histaminique

se trouve potentialisée par les parasympathomimétiques, et pensaient que l'acétylcholine, constamment libérée au niveau des cellules pariétales, conditionne l'état de réceptivité des cellules gastriques à tous les types d'excitants stomacaux. Ainsi, il paraissait normal que l'atropine, bloquant l'action de l'acétylcholine, déprime, en voie de conséquence, la réponse des cellules pariétales à l'histamine. Mais Lieber (1957) réfute cette solution en demandant qu'on lui explique alors, dans l'optique de Robertson & Grossman, le pourquoi du *non-parallélisme observé entre l'action de l'atropine et de quelques autres parasympatholytiques au niveau d'une part, des cellules pariétales — où l'atropine est d'efficacité très supérieure — et d'autre part du cœur* — où les substances sont également tachycardisantes, dans ces conditions expérimentales.

La conclusion de l'auteur est donc que les anticholinergiques exercent une action directe sur la sécrétion gastrique, distincte de leur propriété parasympatholytique; cet effet « cellulaire » est plus puissant pour l'atropine que pour d'autres substances de la même classe.

I.A.₃ — LES COMPOSÉS A GROUPEMENT AMMONIUM QUATERNAIRE DÉRIVÉS DE L'ATROPINE ET DE LA SCOPOLAMINE.

Il est connu depuis longtemps que la quaternisation d'esters basiques modifie parfois leurs propriétés d'une manière intéressante. Ainsi, dès la fin du siècle dernier, on savait qu'après N-méthylation de l'atropine on obtenait un composé qui possédait, outre les propriétés mydriatiques de l'atropine, des propriétés ganglioplégiques plus importantes. Et dans un premier temps, ce fut bien pour la recherche de leur propriété ganglioplégique que furent synthétisés des corps à fonction ammonium quaternaire, comme le tétraéthylammonium, puis le pentaméthonium et l'hexaméthonium.

Mais la quaternisation de la fonction amine tertiaire des esters dérivés de l'atropine a bientôt conduit à la synthèse de substances dont l'activité ganglioplégique était secondaire, voire même inexistante, alors que l'action antimuscarinique se trouvait très renforcée. La méthanthéline fut l'un des premiers composés de ce type.

Innes & Nickerson (1970) rappellent que ces substances sont faiblement absorbées après administration orale, et que leurs effets au niveau du système nerveux central, même après injection parentérale, sont généralement inexistantes car ils ne franchissent pas assez rapidement la barrière hémato-méningée. Leur métabolisme et leur excrétion restent encore mal connus. Enfin, les auteurs signalent qu'il y a une « impression clinique » selon laquelle les composés à groupement ammonium quaternaire auraient un tropisme d'activité anticholinergique accentué vers le tractus gastro-intestinal.

L'étude des relations entre la structure des composés de ce type et leur activité anticholinergique a été réalisée par Ariens & al. (1964 c). Les auteurs démontrent que le groupe ammonium quaternaire contribue à l'affinité des substances pour les récepteurs cholinergiques, puisqu'il est commun à des cholinomimétiques et à des cholinolytiques. Une certaine nature et une disposition stérique particulière des substituants paraissent indispensables à la manifestation d'une activité intrinsèque. On sait que l'effet principal des molécules

d'acétylcholine au niveau des effecteurs est une baisse du potentiel de membrane ou « dépolariisation ». Celle-ci entraîne une augmentation de la perméabilité de la membrane aux cations. Le groupe ammonium quaternaire est le premier responsable de l'induction des phénomènes électrophysiologiques, encore faut-il qu'une interférence soit possible entre le champ électrostatique du groupe ammonium et le champ du site négatif du récepteur. C'est pourquoi une diminution de la charge du groupe ammonium quaternaire, ou un empêchement stérique par substitution d'un groupement volumineux, doivent entraîner une diminution de l'activité intrinsèque et l'apparition de propriétés cholinolytiques.

On observe, d'une façon générale, que si le groupement ammonium quaternaire porte seulement des petits substituants (deux groupes méthyles ou un groupe méthyle et un groupe éthyle), les composés possèdent les propriétés parasympholytiques les plus intenses.

La revue bibliographique des études comparatives entre les intensités d'action des amines tertiaires et des ammoniums quaternaires, notamment au niveau de la sécrétion gastrique, nous a fait remonter à 1948, année où Strom & Uvnas ont montré que le méthylscopolammonium est plus efficace que l'atropine pour inhiber la réponse sécrétoire du chien à l'hypoglycémie. Puis Cahen & Tvede (1952) évaluant comparativement le méthylbromure d'homatropine et l'atropine, *trouvent une relation linéaire entre les doses des deux substances, nécessaires pour entraîner diverses réponses pharmacologiques* (comme l'action spasmolytique sur l'intestin isolé de lapin et de rat, le ralentissement du transit intestinal du rat, l'apparition d'une mydriase chez la souris et le rat, l'inhibition de la sécrétion salivaire du rat ou du lapin). Les droites de régression établies sont tout à fait parallèles. Herz & al. (1965) déterminent, chez l'homme, l'activité cholinolytique périphérique de cinq substances dont l'atropine, la scopolamine et la méthylscopolamine; les deux dernières sont cinq fois plus actives, sans qu'une différence apparaisse entre la scopolamine et son homologue quaternaire. Ce sont à des conclusions un peu différentes qu'arrivent Domino & Corssen (1967) puisqu'ils démarquent nettement, en clinique humaine, la méthylscopolamine de la scopolamine dans son activité antisécétoire au niveau salivaire.

En conclusion de cette synthèse documentaire, il faut souligner *la très grande variabilité des résultats présentés par les différents auteurs, surtout lorsqu'ils cherchent à transposer une échelle d'activité déterminée, avec un effecteur donné, sur les résultats présentés par les mêmes substances, avec d'autres effecteurs. Pour ce qui est plus particulièrement de la comparaison entre l'activité anticholinergique et l'activité antisécétoire, on retiendra la mise en évidence, dans certains cas, d'un non-parallélisme entre l'intensité de ces deux actions et l'hypothèse explicative d'activité « antisécétoire cellulaire », non proportionnelle à l'activité anticholinergique, qui a été émise. Enfin, le caractère purement compétitif de l'antagonisme exercé par l'atropine à l'égard de l'acétylcholine reste contesté par de nombreux auteurs.*

Tel était l'état de nos connaissances en ces domaines lorsque les présents travaux furent entrepris.

I.B. — METHODES D'EVALUATION, IN VITRO, D'UNE ACTIVITE ANTICHOLINERGIQUE.

I.B.₁ — ORGANES UTILISES.

De nombreux avantages ont fait retenir les expérimentations sur organes isolés pour définir l'intensité d'un antagonisme entre deux substances : la facilité de multiplication des résultats expérimentaux, la possibilité de déterminer avec précision la concentration des substances à l'étude dans la biophase de l'effecteur, la suppression des diverses autorégulations observées dans l'organisme entier et celle des problèmes soulevés par les difficultés de passage au niveau de la barrière digestive ou par les perturbations qu'entraînent les processus du métabolisme.

De multiples organes, riches en récepteurs muscariniques, peuvent être utilisés pour déterminer, in vitro, l'activité anticholinergique périphérique d'une substance.

A côté des préparations auxquelles on peut accorder une « valeur historique » comme le rectus abdominis de grenouille éseriné, le ventricule isolé d'*Helix pomatia*, ou le muscle dorsal énérvé et éseriné de sangsue (Barbot, 1964), les organes les plus récemment choisis par les expérimentateurs font partie de deux ensembles. Certains prélèvements intéressent le cœur des mammifères (Duchêne-Marullaz & Vacher, 1962; Lullmann & Ziegler, 1968; Pratesi & al., 1969; Saxena & Bonta, 1970); d'autres prélèvements, de loin les plus nombreux, sont effectués tout au long du tractus digestif.

Ainsi, des bandes musculaires peuvent être découpées dans la paroi de l'estomac (Furchgott & Bursztyrn, 1967; Durbin & Thorpe, 1970) et des fragments intestinaux peuvent être isolés à partir :

- du duodénum (Pomaret & al., 1969; Caujolle & al., 1968 et 1969);
- du jéjunum (van Rossum, 1963; Julou & al., 1967; Hudgins & Stubbins, 1969);
- de l'iléon (Savini & al., 1967; Takagi & al., 1968; Stubbins & al., 1968; Goyer & al., 1968; Gomer & al., 1968; Chiou & Long, 1969; Ehrhart & al., 1970; Kuhnen-Clausen, 1970; Saxena & Bonta, 1970; Sunahara & Herr, 1970; Olatunde, 1970);
- du côlon (Lecchini & al., 1969).

Tous ces différents organes ne présentent pas le même intérêt, et il a été démontré, par exemple, que le jéjunum de rat, spécifique du récepteur muscarinique, se prête le mieux à l'évaluation précise de l'activité parasympholytique périphérique (van Rossum, 1963). En revanche, l'iléon de cobaye peut conduire à des erreurs d'appréciation importantes du fait de son manque de spécificité pour une classe pharmacologique et de sa réactivité, à l'intérieur de la classe des anticholinergiques, aussi bien avec les stimulants des récepteurs muscariniques qu'avec ceux des récepteurs nicotiniques. Une revue rapide des publications de ces dernières années montre cependant que, pour déterminer l'activité anticholinergique d'un composé, les expérimentateurs ont utilisé l'iléon de cobaye dans plus de la moitié des cas...

I.B.₂ — PRINCIPAUX AGONISTES CHOLINOMIMÉTIQUES
UTILISÉS POUR LES ÉTUDES IN VITRO.

Deux substances, le bethanechol (ou URECHOLINE*) et la méta-choline ou mécholine (ou MÉCHOLYL*) sont surtout utilisées par les Anglo-saxons. Cependant, les produits à propriétés cholinomimétiques les plus souvent retenus pour les études réalisés in vitro sont, à côté de l'acétylcholine elle-même, le furtréthonium, la carbaminoy-choline et l'arécoline.

— *L'acétylcholine.*

Son utilisation in vitro comme agoniste de référence pour la classe des substances cholinergiques a été maintes fois critiquée (van Rossum, 1963; Furchgott, 1966; Rey & Barbe, 1968). La substance est, en effet, rapidement hydrolysée par les cholinestérases de l'organe; ce fait pourrait expliquer son inadaptation à la technique des « courbes cumulatives » (van Rossum, 1963) dont la mise en pratique nécessite un contact prolongé entre agoniste et effecteur, ainsi que son éventuel effet de « fading » ou disparition rapide de l'effet contracturant; il pourrait, également, entraîner une différence très nette entre la concentration de l'acétylcholine dans la zone des récepteurs — et dont l'effet est mesuré par la réponse de l'organe — et la concentration de cette même substance dans le liquide de survie de la cuve, telle qu'on la connaît au moment où la réponse est enregistrée. Or, l'identité des concentrations de l'agoniste, à ces deux niveaux, constitue bien une condition essentielle à l'établissement d'une relation [dose/réponse] correcte.

Toutefois, le caractère contradictoire des opinions émises par les utilisateurs de l'acétylcholine pour des expérimentations réalisées sur organes isolés doit être souligné. Il suffit, par exemple, de citer les travaux de Paton et Rang (1966) qui remarquent que des agonistes puissants, comme l'acétylcholine, ne manifestent un effet de « fading » qu'avec certaines méthodes d'enregistrement et non pas avec d'autres — ce qui montre que l'effet observé est seulement un artefact — et les travaux de Abramson & al. (1969) qui n'enregistrent aucune différence entre les contractions provoquées par l'acétylcholine et celles qui sont induites par d'autres cholinomimétiques, réputés non labiles.

Malgré les désavantages que présente, apparemment, son utilisation, l'acétylcholine reste actuellement, de très loin, l'agoniste de référence le plus souvent employé (Franko & al., 1962; van Rossum, 1966; Savini & al., 1967; Gomer & al., 1968; Goyer & al., 1968; Robelet & al., 1968; Pomaret & al., 1969; Renier & Boissier, 1969; Olatunde, 1970; Sund, 1970).

— *Le furtréthonium ou furfuryl-triméthyl ammonium.*

Son utilisation sous forme d'iodure, et celle de son dérivé méthylé (méthyl-furtréthonium ou FURMÉTHIDE*), sont devenues très profitables depuis que leurs propriétés exclusivement muscariniques et leur grande résistance à l'hydrolyse enzymatique ont été remarquées (Ing & al., 1952 et Armitage & Ing, 1954).

Ariens & al. (1964 b, c et d) ont imposé cette substance comme

produit de référence de la classe pharmacologique; elle a fait l'objet, depuis, de nombreuses publications (van Rossum, 1966; Paton & Rang, 1966; Rang, 1967; Rey & Barbe, 1968).

— *La carbaminoylcholine (carbamate de choline) ou carbachol*

est une autre de ces « acétylcholines retard » que la cholinestérase n'hydrolyse pratiquement pas. Cet ester carbamique, dont la grande stabilité dans l'organisme paraît être le caractère dominant, passe pour manifester une activité supérieure au niveau des fibres lisses du tube digestif et de la vessie, alors que son activité est moindre sur le muscle cardiaque.

Le mécanisme d'action du carbachol reste très controversé. Koelle (1970) pense que cette substance exerce son activité cholinomimétique par le biais de plusieurs mécanismes, dont une interférence directe avec les récepteurs muscariniques et au moins deux types d'action indirecte (stimulation de récepteurs nicotiniques, inhibition de l'acétylcholine estérase). La double activité muscarinique et nicotinique est confirmée par les études de Taylor & al. (1967), cependant que les expérimentations de Furchgott (1966) démontrent, au contraire, l'absence d'interaction entre un ganglioplégique et le carbachol et donc l'absence de composante indirecte (par une stimulation des plexus nerveux) à l'activité de cet agoniste, qui demeure, selon cet auteur, un muscarinique type. Chiou & Long (1969), qui observent toujours des résultats pouvant être interprétés comme la conséquence d'une action dualiste, émettent l'hypothèse d'une stimulation directe des récepteurs cholinergiques à laquelle se surajouterait une libération d'acétylcholine endogène.

— *L'arécoline*

ester méthylique de l'acide N-méthyl tétra-hydro-nicotinique, et donc amine tertiaire (contrairement aux trois produits précédents) peut cependant, sous la forme de sel d'un acide minéral, prendre une configuration qui l'apparente à un ammonium quaternaire.

L'originalité, parmi les amines tertiaires, de la position de l'atome d'azote, dans la molécule d'arécoline — elle constitue le sommet d'un cycle hexagonal — explique, selon van Rossum (1962) le comportement exceptionnel de ce composé, lequel ne vérifie pas la règle générale qui veut que les composés quaternaires aient toujours une affinité et une activité intrinsèque supérieures à leurs analogues tertiaires.

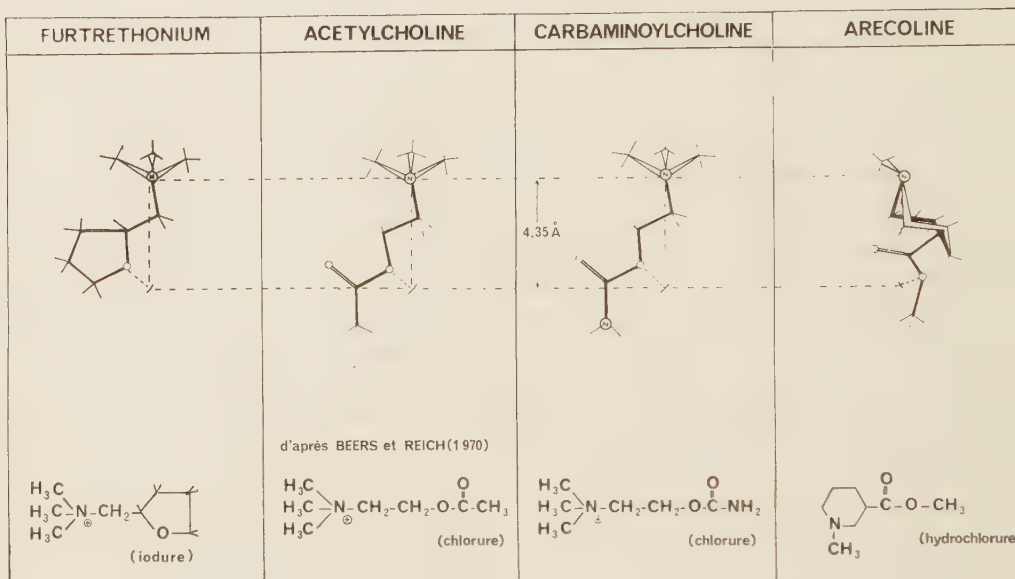
Ce même auteur n'arrive pas (1963) à faire coïncider la structure de l'arécoline avec celle du récepteur cholinergique post-synaptique, de même, d'ailleurs, que Bebbington & Brimblecombe (1965). Il a fallu attendre 1970 pour que les conceptions nouvelles et plus générales de Beers & Reich, exposées brièvement ci-dessus, permettent d'établir un point commun entre la molécule d'arécoline et les autres cholinomimétiques.

Il s'agit d'un cholinomimétique se comportant comme la pilocarpine sur les effecteurs des fibres post-ganglionnaires du système parasympathique, avec une intensité d'activité supérieure. Selon Holmstedt (1967), il se pourrait que l'arécoline n'agisse pas *per se* mais en mobilisant l'acétylcholine endogène.

La communauté de structure des quatre substances parasymphathomimétiques les plus utilisées in vitro, et qui viennent d'être rapidement évoquées, est rappelée sur la figure 2, réalisée d'après les travaux de Beers & Reich (1970).

FIGURE 2

Configuration spatiale de quelques parasymphathomimétiques



I.B.₃ — PRINCIPES D'ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTAGONISTE; EXPRESSION DES RÉSULTATS.

De nombreux auteurs restent attachés à l'expression par une « dose efficace à 50 p. 100 » (ou DE 50) de l'activité antagoniste d'une substance. Le principe d'étude est simple : il s'agit de provoquer la contraction de la préparation isolée par adjonction à la solution de survie d'une quantité, déterminée et fixe, de l'agoniste choisi; après rinçage, la recherche de l'inhibition provoquée par une certaine quantité, variable, de l'antagoniste, ajoutée dans la cuve avant l'introduction de la même dose d'agoniste que précédemment, permet de réaliser une courbe représentant le pourcentage d'inhibition de la contraction par l'agoniste seul, en fonction de la dose d'antagoniste. A partir de cette courbe, la DE 50 est extrapolée. Il s'agit de la concentration de la substance à l'étude, exprimée en grammes par litre ou, plus rarement, en moles par litre, qui entraîne une réduction de moitié de l'amplitude de contraction de l'organe isolé provoquée par la concentration choisie d'agoniste.

Ce paramètre est finalement peu riche de renseignements puisqu'il s'applique aussi bien à des inhibiteurs compétitifs de l'agoniste, qu'à des inhibiteurs non compétitifs interférant avec la chaîne d'événements biologiques conduisant du stimulus à l'apparition de l'effet,

ou même à des inhibiteurs fonctionnels provoquant un effet opposé à celui de l'agoniste et dont résulte l'inhibition globale. D'un autre côté, l'expression d'une potentialité antagoniste par une DE 50 oblige à la précision stricte de la concentration choisie pour l'agoniste, et ne permet qu'un rapprochement très difficile, sinon impossible, entre les résultats obtenus par différents auteurs expérimentant à des concentrations d'agoniste différentes.

Actuellement, les pharmacologues sont de plus en plus nombreux à exprimer leurs résultats en accord avec les principes de la *pharmacologie moléculaire* développés par Ariens (1954), Gaddum (1957) puis Ariens & al. (1957), et mis en application pratique au niveau des organes isolés par Arunlakshana & Schild (1959) puis van Rossum (1963).

Le rappel de la signification des paramètres qui rendent compte, dans ce cadre, de l'activité d'un antagoniste, ne peut se faire sans une revue générale rapide des principes de la pharmacologie moléculaire, fondés sur l'idée que l'action d'une substance est due à l'*interaction physico-chimique entre la molécule de cette substance et les molécules responsables de la stimulation des organismes vivants, ou récepteurs cellulaires* (Wulfert, 1969). Le principe de base de cette diversification de la pharmacologie est donc de considérer que l'action de chaque substance à structure spécifique est le résultat d'une série d'interactions physico-chimiques simples. A ce niveau moléculaire, il y a convergence de multiples disciplines scientifiques, ce qui fait que le mécanisme pharmacologique se trouvera aussi bien exprimé en termes de relations chimiques ou physiques. Grâce au concours de ces sciences exactes, la pharmacologie moléculaire constitue surtout une approche quantitative de la pharmacologie générale; les molécules des substances sont les unités fonctionnelles fondamentales, les interactions moléculaires les seules bases d'explication des effets pharmacologiques (Ariens & al., 1964 b et d).

Diverses théories tentent de préciser le mécanisme d'action des substances et le type d'interaction qui se réalise entre celles-ci et les récepteurs correspondants. *La théorie d'occupation*, dont les bases ont été formulées par Clark (1926) et Gaddum (1937), relie de façon directement proportionnelle l'intensité de l'effet pharmacologique au nombre de récepteurs occupés par la substance. Stephenson (1956), puis Ariens & al. (1957), proposent quelques compléments à la théorie de départ en introduisant la notion « d'activité intrinsèque ». De plus, l'interaction entre molécules réceptrices et actives dépend de leur « affinité ». La différence de signification de ces deux termes est facile à saisir : un agoniste et un antagoniste doivent tous deux posséder une certaine *affinité* pour le même type de récepteur s'ils interfèrent *compétitivement* l'un avec l'autre; seul l'agoniste, qui détient l'aptitude d'induire un effet réel en stimulant l'effecteur, est pourvu d'*activité intrinsèque*.

A peu près à la même période, et d'après le principe de Croxatto & Huidobro (1956) selon lequel une substance n'est efficace qu'au moment où elle rencontre son récepteur, Paton & Rang (1966) ont proposé la « *théorie cinétique* ». Selon celle-ci, l'activation du récepteur n'est pas proportionnelle au nombre de sites réceptifs occupés, mais au nombre de rencontres des molécules de substances avec leurs récepteurs, par unité de temps. Ainsi, l'activité pharmacologique serait fonction de la vitesse d'association et de dissociation des complexes formés, et non pas du nombre de complexes plus ou moins stables qui se sont constitués.

D'autres théories sont venues compléter les deux théories précédentes en s'attachant à expliquer la nature du stimulus initial. Il s'agit principalement de la théorie de l'induction de changements conformationnels (Koshland, 1958; Monod & al., 1965; Monod, 1966; Wyman, 1967), et de la théorie de la perturbation macro-moléculaire (Belleau, 1964).

Si l'on fait *une synthèse de ces diverses théories, on s'aperçoit qu'elles concourent toutes à l'approche d'une même réalité et qu'elles sont souvent complémentaires et non pas contradictoires*. Ainsi, l'occupation du récepteur, phénomène essentiel dans la théorie d'Ariens peut parfaitement être suivie d'une modification de conformation de la structure réceptrice. Si l'on admet que cette modification, nécessaire à la manifestation de l'effet, est proportionnelle à « l'activité intrinsèque » de l'agoniste, ce paramètre prend une signification et une dimension nouvelles. De la même façon, s'il est vrai que la vitesse de dissociation des complexes [substance-récepteur] soit un facteur déterminant de l'intensité du stimulus, le coefficient « activité intrinsèque » représentera la fraction de récepteurs libres, à chaque instant, et par là disponibles pour une nouvelle interaction.

En d'autres termes, et bien que les mécanismes physico-chimiques impliqués par *ces diverses théories* soient très différents, elles *se ramènent toutes à un principe essentiel, la formation d'un complexe qui suit la loi d'action de masse*. Deux paramètres, l'affinité et l'activité intrinsèque, rendent parfaitement compte de l'intensité d'action d'une substance, conséquence immédiate de la mise en pratique de ce principe.

Van Rossum (1966) et Mackay (1966) ont formulé les équations mathématiques de base qui découlent de la théorie d'occupation. La définition, dans le cadre de cette théorie, des deux paramètres déjà évoqués, peut se faire comme suit :

— *L'affinité d'un agoniste pour un type de récepteurs* (ou pD_2) est proportionnelle au logarithme de l'inverse de la concentration qui entraîne une réponse égale à la moitié de la réponse maximale que l'on puisse obtenir avec cet agoniste et cet effecteur.

— *L'affinité d'un antagoniste compétitif*. Si une famille de courbes doses-réponses pour l'agoniste A est construite, en absence et en présence de différentes doses de l'antagoniste B, les déplacements x des courbes, vers la droite de la courbe de contrôle (réalisée en absence d'antagoniste), seront égaux à $\frac{(A)}{(a)}$ où (A) et (a) sont les concentrations de l'agoniste A nécessaires pour entraîner la même fraction de l'effet maximal en présence (A) ou en absence (a) de l'antagoniste.

Le cologarithme de la concentration d'antagoniste qui entraîne un déplacement x de la courbe dose-réponse de l'agoniste est appelé pA_x . Si le déplacement x est tel que $\frac{(A)}{(a)} = 2$, un paramètre classique, représentatif de l'affinité de l'antagoniste pour les récepteurs intéressés est alors déterminé. Il s'agit du pA_2 tel que :

$$pA_2 = pA_x + \log \left(\frac{A}{a} - 1 \right).$$

Ce paramètre représente donc le logarithme de l'inverse de la concentration d'antagoniste qui réduit l'effet d'une dose x d'agoniste à celui d'une dose $x/2$.

— *L'activité intrinsèque* rend compte de la potentialité maximale d'une substance agoniste; elle est inversement proportionnelle au nombre de récepteurs qui doivent être occupés pour que se réalise l'induction d'un stimulus S_v , fraction du stimulus maximal S_m pouvant être obtenu avec la substance.

I.C. — TECHNIQUES D'EVALUATION D'UNE ACTIVITE ANTISECRETOIRE CHEZ LE CHIEN ET LE RAT.

Quelques remarques préliminaires préciseront les limites de la synthèse bibliographique suivante, qui constitue un rappel des techniques habituellement utilisées pour l'étude, chez l'animal, de la sécrétion gastrique et des antisécrétoires.

1 - Cette revue *ne concerne que deux espèces* sur lesquelles portent le plus souvent les expérimentations relatives à la sécrétion gastrique, *le Rat et le Chien*.

2 - L'évaluation de l'incidence réelle de l'anesthésie, facteur perturbateur des fonctions sécrétoires, n'a pas été prévue dans la présente étude; ainsi ne seront envisagées que les techniques utilisant *des animaux vigiles*.

3 - Seules seront considérées les méthodes expérimentales présentant un intérêt pour l'étude de la sécrétion gastrique d'un animal placé dans l'une des trois situations suivantes :

- *sécrétion consécutive à une stimulation vagale*;
- *sécrétion consécutive à la stimulation de la libération de gastrine antrale*;
- *état sécrétoire non stimulé par l'utilisation d'une substance pharmacologique*;

4 - Par voie de conséquence, les seules substances pharmacologiques dont le mécanisme d'action sera rappelé seront celles qui provoquent une *stimulation du pneumogastrique* ou de la *libération de gastrine*. Se trouvent donc exclues de ces rappels bibliographiques, des substances telles que l'histamine ou la pentagastrine et leurs homologues, dont l'intérêt, par ailleurs, est certain.

I.C.₁ — EXIGENCES METHODOLOGIQUES ET TECHNIQUES EXPERIMENTALES GENERALES.

Mignon & Bonfils (1971) ont réalisé une revue exhaustive des exigences méthodologiques à respecter et des critères d'efficacité qui peuvent être retenus pour évaluer l'efficacité des antisécrétoires gastriques. Certains soucis d'efficience thérapeutique échappent au thème des expérimentations qui vont suivre, mais en revanche la plupart des grandes lignes développées par les auteurs concernent

les choix fondamentaux devant lesquels se trouve placé l'expérimentateur lorsqu'il doit évaluer l'inhibition de la sécrétion fundique exercée par un antisécrétoire anticholinergique.

Cette sélection des conditions expérimentales générales doit tenir compte de plusieurs éléments :

1 - *Le type de sécrétion* qu'il convient d'explorer. La sécrétion basale du chien, lorsque celui-ci reste à l'abri de toute stimulation, est, en principe, nulle; celle du rat est importante mais elle se trouve caractérisée par une grande variabilité. D'un autre côté, si la sécrétion stimulée apparaît beaucoup moins fluctuante, elle demeure encore sous l'influence vagale, hormis dans le cas d'une stimulation maximale (Makhlof & al., 1968). Alors se pose la question d'une correspondance entre cet état pharmacologique et la réalité physiologique.

2 - *Le mode de stimulation*. L'administration unique, plus ou moins rapide, du stimulant, préconisée par Code & al. (1949), doit être répétée en absence et en présence de l'inhibiteur (Lieber, 1957) ou effectuée sur deux groupes d'animaux expérimentés parallèlement. L'interprétation des résultats est alors toujours délicate. Aussi, la perfusion ou les administrations répétées à intervalles réguliers, qui réalisent un état sécrétoire relativement stable, sont-elles très souvent préférées à la technique de la stimulation unique.

3 - *Les quantités d'antagoniste à administrer* doivent recouvrir un éventail de doses suffisamment étendu, puisqu'elles conditionnent la spécificité de l'action (Connell & al., 1968) et l'intensité de l'inhibition maximale (Benjamin & al., 1960).

Les techniques expérimentales générales dont dispose l'expérimentateur qui désire mesurer des débits sécrétoires gastriques sont relativement peu nombreuses. Outre le procédé de la ligature pylorique (qui évite la fuite duodénale des sécrétions mais nécessite, après une durée assez brève, le sacrifice de l'animal), le principe d'une fistulisation gastrique directe, ouverte temporairement, et celui de l'isolement d'une zone gastrique mise en communication avec l'extérieur, ont été mises en pratique chez de nombreuses espèces animales. Rudick & al. (1967) précisent les détails opératoires d'une mise en place de canule gastrique et d'une réalisation de poche isolée, chez le Chien; les auteurs rappellent les inconvénients d'une fistule directe qui expose à une collecte incomplète du suc gastrique, à la contamination de celui-ci par les reflux duodénaux ou par la salive, et qui ne permet pas de stimulation physiologique (repas d'épreuve). Mais l'isolement d'une partie de la muqueuse sécrétante, en plus des modifications histologiques et anatomiques qu'entraîne l'acte chirurgical, provoque de profonds bouleversements physiologiques par la diversion externe permanente d'une partie de la sécrétion (Mignon & Bonfils, 1971).

Les méthodes de fistules gastriques chroniques chez le Rat (Lambert, 1961; Komarov & al., 1963; Wormsley & Grossman, 1964; Bel & al., 1966; Kowalewski & Chmura, 1969) sont grevées des mêmes inconvénients. La possibilité d'utiliser cette espèce en groupes numériquement importants et celle de constituer simultanément plusieurs lots, ont permis le développement de méthodes « aiguës », comme la ligature pylorique déjà évoquée et la fistule transduodénopylorique (Bonfils & al., 1958), méthodes qui seront décrites par ailleurs.

I.C.₂ — TECHNIQUES D'ÉTUDE DE LA SÉCRÉTION GASTRIQUE CONSÉCUTIVE A LA STIMULATION VAGALE.

La technique de la double œsophagostomie, introduite en 1910 par Pavlov, associée à une fistulisation gastrique, permet l'étude de la réponse sécrétoire à un repas d'épreuve qui se trouve régurgité au niveau de l'abouchement proximal de l'œsophage. Cependant, le maintien en survie d'animaux ayant subi cette préparation est difficile et la plupart des auteurs lui ont préféré la réalisation d'une poche fundique innervée ou « poche de Pavlov » dans laquelle se trouve implantée une canule. Dans les deux cas, si la stimulation à un repas d'épreuve constitue une voie très physiologique d'excitation des glandes fundiques, elle n'en demeure pas moins un stimulus non mesurable, et dont on ne peut faire varier à volonté l'intensité.

Les stimulants pharmacologiques, en revanche, permettent une plus grande souplesse dans l'expérimentation; le mécanisme de la stimulation vagale que provoquent l'insuline et le 2-déoxy-d-glucose, les deux substances les plus utilisées, a fait l'objet de nombreux travaux, dont une synthèse bibliographique fut réalisée en 1967 par Brooks.

Bremer (1959 a et b) démontre le rôle joué par l'hypoglycémie dans la stimulation de la sécrétion gastrique du chien par l'insuline. Devant la persistance d'une hypersécrétion, malgré la perfusion de glucose par voie intraveineuse à un animal en situation d'hypoglycémie, cet auteur est le premier à émettre l'hypothèse d'une activité persistante de la gastrine circulante, dont la libération a été favorisée par la stimulation vagale initiale.

La très grande variabilité de la réponse sécrétoire à une même stimulation insulinique est soulignée dès 1962 par Davis & Brooks. Peu après, se trouve parfaitement établie la nécessité d'un relais vagal à la suite de l'hypoglycémie (Bremer & Dubois, 1963).

Le problème de savoir si la stimulation insulinique de la sécrétion gastrique est proportionnelle à la vitesse de diminution du taux de glucose sanguin ou au niveau de glycémie atteint, reste l'objet de nombreuses études. Davis & al. (1965) essaient de corrélér le débit acide de chiens Beagle à l'un et l'autre de ces deux paramètres; les conclusions de ces auteurs sont plus en faveur d'une relation entre le débit sécrétoire et le niveau inférieur atteint par la glycémie. La sécrétion débute lorsque le taux de la glycémie est inférieur à une valeur critique.

Colin Jones & Himsworth (1969) vont plus loin, puisqu'ils pensent qu'en aucun cas la réponse sécrétoire n'est proportionnelle à la sévérité de l'hypoglycémie: lorsque le seuil critique est atteint, la sécrétion suit la loi du « tout-ou-rien ». Tel n'est pas le point de vue développé par Hirschowitz (1967); celui-ci démontre qu'il n'y a pas de niveau supérieur de la glycémie à partir duquel l'activité vagale cesse; en outre, la réponse sécrétoire à l'excitation vagale ne suit pas la loi du « tout-ou-rien ». Spencer & Grossman (1971) arrivent à des conclusions qui vont dans le même sens; d'après ces auteurs, l'insuline entraîne un stimulus glycopénique gradué, lequel induit une réponse acide graduée. Le débit, au moment du pic acide, est directement relié avec la chute de la glycémie due à l'insuline.

L'utilisation du 2-déoxy-d-glucose, ou 2-DDG, comme stimulant

vagal, est relativement récente; Hirschowitz & Sachs (1965) démontrent que la sécrétion provoquée par l'injection de 2-DDG peut être abolie par l'atropine: la stimulation gastrique du 2-DDG emprunte donc un processus cholinergique. Ces auteurs montrent également que ce composé agit par la formation du 2-déoxy-glucose-6-phosphate non métabolisable, entraînant une cytogluco-pénie de fait. Dans cette situation, la stimulation du centre vagal hypothalamique suit une relation « dose-réponse » et non pas une loi du « tout-ou-rien ». Baume & al. (1966) confirment la formation du composé non métabolisable, le 2-DG-6-P, qui bloque la glycolyse et conduit à une gluco-pénie intracellulaire. Enfin, Himsworth & Colin-Jones (1969) pensent que les aires hypothalamiques latérales contiennent un chémorécepteur sensible à une baisse du taux de glucose métabolisable (produite par injection de 2-DDG ou encore de 3-O-méthyl-glucose), lequel peut entraîner puis entretenir un stimulus vagal. Ils confirment cette hypothèse l'année suivante (Colin-Jones & Himsworth, 1970).

Pour en terminer avec ce rapide aperçu concernant les substances les plus utilisées pour induire une sécrétion gastrique en réponse à une stimulation vagale, il faut rappeler les altérations histologiques de type gastritique signalées par Mignon & al. (1971) après utilisation de 2-DDG chez le Chien, ainsi que les divers types d'interaction entre l'insuline, le 2-DDG et divers autres stimulants sécrétoires, mis en évidence par Spencer & Grossman (1970):

— l'insuline et le 2-DDG inhibent fortement la réponse sécrétoire maximale à la pentagastrine;

— la sécrétion submaximale histaminique est potentialisée par le 2-DDG et l'insuline;

— la sécrétion d'une poche fundique énervée (poche de Heidenhain) provoquée par la pentagastrine ou l'histamine se trouve toujours diminuée par l'administration simultanée d'insuline, alors que l'injection de 2-DDG ne perturbe que la réponse à la pentagastrine.

La comparaison des conditions expérimentales observées par quelques auteurs peut utilement se faire sous la forme des tableaux récapitulatifs suivants. La grande variété des doses administrées, des voies d'injection et de la durée d'étude se trouve ainsi particulièrement mise en évidence.

TABLEAU 1

*Comparaison des conditions observées par divers auteurs
pour stimuler la sécrétion gastrique du rat
par une injection d'insuline.*

Situation expéri- mentale	Administration d'insuline		Auteurs	Remarques
	Voie	Doses (unités/kg)		
Fistuli- sation gastrique perma- nente	Intra- périto- néale	0,4	Misher et Brooks (1966)	Quatre heures de recueil après la stimulation.
	Sous- cutanée	0,07	Lane et al. (1957)	Cinq heures de recueil après la stimulation qui ne survient elle-même qu'après une étude de la sécrétion basale de 4 à 5 heures.
		0,4	Lee et Thompson (1968)	
		0,8 et 1	Lee et Thompson (1969)	— A 0,8 U/kg apparaît le pic maximal du débit volu- mique. — A 1 U/kg apparaît le pic maximal du débit acide.
Ligature du pylore	Sous- cutanée	0,5 (3 fois en 24 h)	Jow et al. (1960)	Recueils pendant 24 heures cardia et pylore liés + fistu- lisation.
		3,5	Lick et al. (1967)	Recueils pendant 6 heures.
		4	Tamm et al. (1967)	Recueils pendant 2 heures.

Noter que chez des rats à ligature pylorique, la dose d'insuline retenue par les auteurs est en général plus élevée que chez les animaux porteurs d'une fistule gastrique permanente.

TABLEAU 2

*Comparaison des conditions observées par divers auteurs
pour stimuler la sécrétion gastrique du chien
par une injection d'insuline.*

Situation expérimentale : fistulisation gastrique permanente.

Administration d'insuline		Auteurs	Remarques
Voie	Dose optimale (unité/kg)		
Intra-veineuse	0,1 à 0,5	Strom et Uvnas (1948)	—
	0,15 à 0,9	Hirschowitz et O'Leary (1964)	La dose optimale est de 0,15 U/kg; pour celle-ci, le débit acide est double de celui correspondant à 0,30 U/kg. Les réponses pepsiniques sont identiques.
	0,15	Connell et al. (1968)	Surajoutent une perfusion de KCl (0,5 mEq/kg/heure) à la stimulation; durée totale de la réponse observée : 150 mn.
	0,25	Stening et Grossman (1970 b)	A partir de 0,5 U/kg, la réponse maximale diminue.
	0,5	Lieber (1957)	Cette dose suffit à provoquer une sécrétion gastrique régulière et abondante, en évitant les manifestations hypoglycémiques secondaires.
		Eisenberg et al. (1966)	La durée de la réponse augmente avec les doses supérieures, mais pas la valeur du pic sécrétoire maximal.
		Vagne et Grossman (1969)	—
		Pederson et Brown (1972)	—
	0,6	Hirschowitz (1967)	Durée de la réponse sécrétoire : 4 h.
	1	Bachrach (1953)	—
Sous-cutanée	1,5	Davis et Brooks (1962)	Notent des variations individuelles considérables.
	0,2	Connell et al. (1968)	La réponse débute au bout de 30 mn et se trouve à un maximum au bout de 60 mn.

Noter que l'administration du stimulant se fait presque toujours par voie intraveineuse, en une injection unique et rapide. La dose d'insuline administrée varie, selon les auteurs, du simple au décuple. Les doses les plus souvent ou les plus récemment utilisées sont de 0,25 à 0,5 unité/kg.

TABLEAU 3

Comparaison des conditions observées par divers auteurs pour stimuler la sécrétion gastrique du rat et du chien par l'administration de 2-DDG.

Situation expérimentale : fistulisation gastrique permanente.

Espèce	Administration de 2-DDG		Auteurs	Remarques
	Doses (mg/kg)	Voie et type		
Rat	0 à 800	Injection unique par voie sous-cutanée.	Baume et al. (1966)	Recueils 2 à 4 heures après l'injection chez le rat à ligature pylorique — doses utilisables : 200 à 600 mg/kg.
	10 à 200	Injection unique par voie sous-cutanée.	Konturek et Scanolo (1968)	Rat à fistule chronique. Réponse maximale à 100 mg/kg.
	200	»	Welsch et al. (1969)	Rat à ligature pylorique. Recueil 6 heures après l'injection.
Chien	25 à 200	Injection lente par voie intra-veineuse à la vitesse de 6,6 mg/kg par minute.	Hirschowitz et Sachs (1965)	— Réponse maximale à 200 mg/kg. — La durée totale de la stimulation augmente avec la dose. Recueils pendant 5 heures.
	100	Injection rapide par voie intra-veineuse.	Eisenberg et al. (1966)	Recueils pendant 4 heures.
	25 à 100	Injection par voie intra-veineuse, d'une durée de 30 mn.	Grahame et al. (1968)	Recueils pendant 3 heures. Réponse maximale à 100 mg/kg.
	50 à 150	Injection par voie intra-veineuse en 3 mn.	Varro et al. (1969)	Recueils pendant 4 heures. Réponse maximale à 150 mg/kg.
	50 à 400	Perfusion lente par voie intra-veineuse.	Geist et al. (1970)	Réponse maximale à 200 mg/kg.
	50 à 150	Perfusion lente par voie intra-veineuse en 3 heures.	Mignon et al. (1971)	Recueils pendant 3 ou 4 heures. A 100 mg/kg/3 h, la réponse maximale est pratiquement atteinte.

Noter que chez le rat c'est la voie sous-cutanée qui est utilisée tandis que la voie intraveineuse lui est préférée chez le chien. Les doses administrées sont comparables entre les deux espèces.

Au moment où ce travail a été entrepris, la presque totalité des expérimentations cherchant à provoquer une réponse sécrétoire fundique par le biais de la libération de gastrine antrale, se faisaient sur des chiens porteurs de préparations chirurgicales permanentes. Ces dernières associent toujours une poche fundique énervée (poche de Heidenhain), ou plus rarement une fistulisation gastrique directe, à une poche antrale isolée, énervée ou innervée. Ce sont les principales conditions de la stimulation antrale que l'on va s'attacher à résumer, en s'en tenant à l'utilisation des seuls stimulants chimiques qui ont été, de loin, les plus employés. Le groupe des amino-acides, celui des alcools, les esters de la choline ou diverses solutions tampons à pH alcalins, constituent les substances les plus efficacement utilisées pour induire ou augmenter la libération de gastrine lorsqu'elles se trouvent introduites dans la poche antrale.

— *Les acides aminés et les peptides courts.*

Dès 1925, Ivy & Javois montrent que certains amino-acides provoquent une sécrétion gastrique lorsqu'ils sont administrés par tubage œsophagien. Par la suite, le rôle spécifique de ces substances sur la libération de gastrine est précisé, et leur potentialité relative, pour ce type d'activité particulière, recherchée. Elwin & Nilsson (1963) évaluent l'activité de quelques acides aminés en fonction de celles de la glycine et de la β -alanine, qu'ils jugent équivalentes, et auxquelles ils attribuent le coefficient 100. Le pouvoir sécrétagogue de la sarcosine se voit alors attribuer le coefficient 60, celui de l' α -alanine le coefficient 30... C'est la glycine que choisissent le plus souvent les expérimentateurs, à des concentrations variant de 0,2 à 3,2 M, et en perfusions qui se prolongent de trente minutes à deux heures (Emas & al., 1969; Andersson & Elwin, 1971). Cependant, les utilisateurs des extraits de foie ou de viande, pour les mêmes stimulations, sont également nombreux (Longhi & al., 1957; Shapira & State, 1961; Abbott & al., 1965; Mignon & al., 1966; Schofield, 1966).

— *Les alcools.*

Woodward & al. (1957 a et b) découvrent la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain lorsqu'une certaine quantité d'éthanol se trouve introduite dans la poche antrale. L'effet sécrétagogue semble dû à une action locale sur la muqueuse antrale (Elwin, 1962). En effet, il y a bien absorption rapide de l'alcool au niveau antral, mais la corrélation entre l'effet sécrétagogue et la concentration résiduelle dans la poche antrale est très significative. Cet effet sécrétagogue, selon Elwin & Uvnas (1966) se limite d'ailleurs aux alcools dont la molécule possède une chaîne carbonée à deux ou trois atomes. Ainsi, le pouvoir sécrétagogue de l'éthanol étant fixé au coefficient 100, ceux du propanol, du butanol, de l'isopropanol et du méthanol se situent respectivement à 100, 20, 15 et 5. Le mécanisme d'action de l'éthanol, exploré par Olbe & Elwin (1966), apparaît assez complexe et pourrait, au moins en partie, passer par un mécanisme non cholinergique puisque la stimulation qu'il induit n'est pas complètement supprimée par application topique d'atropine.

— *Les esters de la choline.*

Après que Robertson & al. (1950) aient démontré la libération de gastrine consécutive à une irrigation de la muqueuse pylorique par une solution d'acétylcholine, de nombreuses substances voisines sont expérimentées dans le même sens. C'est ainsi que Olbe & Elwin (1965) augmentent considérablement la réponse sécrétoire d'une poche de Heidenhain par instillation de solutions de nicotine (0,1 à 0,5 p. 100) dans la poche antrale. Pour des solutions à concentrations plus élevées, une inhibition, au contraire, apparaît.

Utilisé dans les mêmes conditions, le chlorhydrate de choline exerce une stimulation strictement topique jusqu'à une concentration de 4 p. 100 (Andersson & Elwin, 1971); ensuite elle passe la barrière digestive antrale et des effets cholinergiques systémiques surviennent. Les mêmes auteurs mettent en évidence la dépendance de l'action de l'acétylcholine et du pH antral, tandis que Bedi & al. (1971) montrent la potentialisation de celle-ci par l'irrigation simultanée avec des sels biliars. Enfin, Posey & al. (1971) précisent qu'une solution d'acétylcholine à 0,2 p. 100 entraîne une libération très importante de gastrine pour des valeurs de pH supérieures à pH 5,4.

— *Solutions à pH alcalin.*

Ces solutions ont surtout été utilisées pour l'étude de l'influence de l'acidité ou de l'alcalinisation sur la stimulation induite par les substances qui viennent d'être évoquées précédemment. Ainsi, Elwin & Uvnas (1966) déterminent le pH optimal pour la libération de gastrine selon que l'on emploie la peptone, la glycine, l'éthanol ou la stimulation vagale. Celui-ci se situe entre pH 5 et pH 7 pour toutes les substances, mais peut descendre jusqu'à pH 3 pour les deux derniers stimuli. Andersson & Elwin (1971) confirment ces résultats et précisent la pH-dépendance de l'activité de certaines de ces solutions.

Enfin de nombreux travaux montrent que des perfusions de la poche antrale par des solutions franchement acides contenant des substances stimulantes (pH inférieurs à pH 1, 5) inhibent fortement (Shapira & State, 1961; Thompson & al., 1964; Williams & Forrest, 1969) ou même totalement (Longhi & al., 1957; Schofield, 1966) la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain.

I.C.₄ — TECHNIQUES D'ÉTUDE DE LA SÉCRÉTION GASTRIQUE DU RAT VIGILE, EXCLUANT L'UTILISATION D'UN STIMULUS PHARMACOLOGIQUE.

— *La technique de la ligature pylorique.*

Mise au point par Shay & al. (1945), cette méthode d'étude a été l'objet de nombreux travaux. Les uns précèdent les mécanismes sécrétoires mis en jeu par la ligature du pylore et essaient de codifier les conditions expérimentales optimales à observer.

Colard (1956) note l'absence d'ulcérations gastriques quatre heures après la ligature et recommande cette durée d'accumulation des sécrétions dans l'estomac avant que n'intervienne le sacrifice des animaux. Il considère cette sécrétion comme une réponse maximale de la muqueuse, stimulée à la fois par le stress que constitue la ligature et par la distension due à la stase gastrique. Brodie (1966 a) précise que

le traumatisme pylorique entraîne une stimulation vagale par le biais de réflexes longs pylorofundiques empruntant les fibres efférentes et afférentes vagues. La participation gastrique au phénomène global serait nulle. Déterminant la valeur de l'utilisation de la technique pour l'évaluation d'une activité antisécrétoire, Alphin & Ward (1967) constatent que les variations individuelles spontanées autour de la moyenne générale sont de 40 p. 100 pour le volume et de 20 p. 100 pour le débit acide; ils proposent que ne soient considérées comme résultats significatifs que les amplitudes d'inhibition dépassant ces fluctuations. Enfin, Dubrasquet & al. (1969) mettent en garde contre le fait que le volume de la sécrétion n'est pas une fonction linéaire du temps de recueil; des variations rythmées de cette sécrétion semblent en relation avec le nyctémère.

D'autres travaux soulignent les critiques que l'on doit formuler à l'égard de la technique. La ligature serrée autour du pylore et la distension de la paroi gastrique qui résulte de l'accumulation des sécrétions perturbent sérieusement le drainage veineux de l'étage gastrique et provoquent les ulcérations du rumen (Madden & al., 1951; Lambling & al., 1953). Cette gêne circulatoire et l'altération de la muqueuse glandulaire qui en résulte sont à nouveau signalées par Bonfils & al. (1958). Toutes ces raisons ajoutées à l'inconvénient de l'anesthésie initiale font qu'utiliser une telle préparation conduit à se placer dans des conditions extra-physiologiques (Bel & al., 1966). Elle ne permet aucune étude comparative, hormis entre des séries importantes d'animaux strictement identiques, et l'essai doit être arrêté bien avant l'apparition d'ulcères hémorragiques. Enfin, de Saint-Blancat & al. (1968) montrent que, dans cette situation expérimentale, le volume accru de la sécrétion est lié à un transfert d'eau important de l'organisme vers la muqueuse, accompagné d'une forte hyperchlorhydrie; l'emploi de la technique paraît limité puisque cet important phénomène de transfert hydrique peut masquer l'action inhibitrice réelle d'une substance pharmacologique.

— *La fistulisation aiguë sur le rat en situation de contrainte.*

A côté de la fistulisation gastrique directe et permanente déjà évoquée dans le cadre des techniques générales appliquées à l'étude de la sécrétion gastrique, la technique de la fistulisation aiguë trans-duodénopylorique du rat, présentée par Bonfils & al. (1958) offre un certain nombre d'avantages: la sécrétion est élevée, il n'y a pas de distension gastrique, les recueils peuvent être fractionnés dans le temps.

Cependant, les auteurs connaissent les limites de leurs préparations: l'animal en contention s'agite et se trouve donc dans des conditions extra-physiologiques, d'autant plus que l'interruption de l'arrivée des ions H^+ dans le duodénum inhibe probablement la libération de sécrétine; d'autre part, des ulcérations gastriques glandulaires qui surviennent dans les deux tiers des cas au cours des six premières heures, diminuent la surface glandulaire et laissent exsuder une sérosité alcaline.

La synthèse bibliographique qui précède souligne à la fois la variété des études relatives à l'activité antisécrétoire des substances anticholinergiques et la multiplicité des techniques d'étude de l'inhibition pouvant être exercée par une telle substance sur la sécrétion gastrique du rat et du chien.

Cependant, lorsqu'elles visent à établir comparativement les potentialités inhibitrices des composés parasympholytiques à l'égard de deux ou plusieurs manifestations d'un stimulus de nature cholinergique, les études entreprises considèrent toujours la sécrétion gastrique comme une entité que l'on peut cerner par un paramètre (et un seul) rendant compte de « l'activité antisécrétoire » du produit. *Il semblerait pourtant qu'une exploration au moyen de situations expérimentales sélectives des diverses composantes d'une inhibition éventuellement exercée sur la sécrétion gastrique soit souhaitable.*

Enfin, *aucun rapprochement ne semble avoir jamais été réalisé entre l'activité anticholinergique, établie in vitro selon les principes de la pharmacologie moléculaire, et l'activité inhibitrice exercée à l'égard de la sécrétion gastrique, envisagée au cours des divers états sécrétoires qui mettent en jeu des régulations cholinergiques différentes.*

Tel était l'état de nos connaissances lorsque les présentes expérimentations ont été entreprises.

II - TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

II.A. — CHOIX DES SUBSTANCES, DES CONDITIONS EXPERIMENTALES ET DES TECHNIQUES GENERALES.

II.A.₁ — CHOIX DES SUBSTANCES UTILISÉES.

Le choix des substances anticholinergiques, pour des raisons qui ont été développées précédemment, s'est porté sur l'atropine et deux ammoniums quaternaires, les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums. La figure 3 précise l'anion de la forme utilisée pour chacun de ces composés. La similitude des structures moléculaires, telle qu'elle apparaît sur cette figure, ainsi que les grands écarts d'activité anticholinergique qui caractérisent ces composés — l'atropine et le N-butyl scopolammonium présentent, selon Sund (1970), une relation de 1 à 0,0037, dans leur potentialité anticholinergique — constituent un double avantage à ne pas sous-estimer. D'une part, l'ampleur de l'échelle d'activités relatives de ces substances rendra plus manifeste une distorsion éventuelle lorsque se trouveront modifiées les conditions expérimentales. D'autre part, la ressemblance structurale exclut presque la possibilité d'une interférence de l'une ou plusieurs des molécules étudiées avec l'un des phénomènes biologiques constituant la chaîne qui relie la stimulation du récepteur cholinergique à la manifestation de l'effet biologique. Une telle interaction secondaire venant interférer avec la stimulation principale du récepteur muscarinique rendrait aléatoire la comparaison de trois substances dont les mécanismes d'actions devraient être, en conséquence, manifestement différents.

Les composés anticholinergiques ont été utilisés sous la forme de sels dont la nature et le poids moléculaire se trouvent précisés par le tableau ci-après.

Le choix des substances cholinomimétiques s'est arrêté sur l'acétylcholine que l'on utilisera *in vitro* en présence et en absence d'ésérine, et sur le carbachol, puisqu'il constituera le stimulant de la sécrétion basale du chien. Mais comme il n'est pas certain, d'après les travaux antérieurs, que l'acétylcholine constitue bien l'étalon de référence pour rechercher, *in vitro*, l'intensité d'une activité anticholinergique, les résultats obtenus seront, en outre, recoupés par l'utilisation de furtréthonium, agoniste de choix pour des études plus fines.

FIGURE 3

Configuration spatiale de quelques anticholinergiques

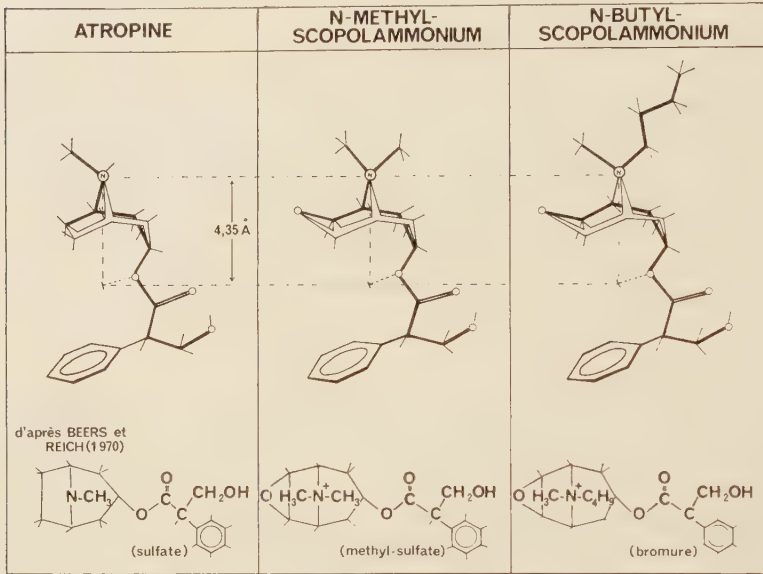


TABLEAU 4

Poids moléculaires des substances anticholinergiques utilisées.

Sels utilisés	Poids moléculaire	Poids de substance contenant un équivalent basique
Sulfate neutre d'atropine	694,8	347,4
Méthylsulfate de N-méthyl scopolammonium.	428	428
Bromure de N-butyl scopolammonium.....	440	440

II.A.₂ — CHOIX DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

Pour ce qui concerne les mesures d'affinité pour les récepteurs cholinergiques, le travail s'est situé dans le cadre des techniques actuelles de la pharmacologie moléculaire (van Rossum, 1963).

La détermination de l'inhibition de la sécrétion gastrique chez le Rat et le Chien vigiles s'est effectuée dans trois situations expérimentales distinctes, et selon les techniques précisées dans le tableau ci-après.

TABLEAU 5

Techniques choisies pour l'étude de l'activité antisécrétoire des substances anticholinergiques.

Situations expérimentales choisies	Techniques utilisées
Réponse sécrétoire gastrique consécutive à une stimulation vagale.	Rat à fistulisation gastrique permanente subissant une stimulation par injection unique d'insuline par voie sous-cutanée.
	Chien à fistulisation gastrique permanente subissant une stimulation par injection unique d'insuline par voie intraveineuse.
	Chien à fistulisation gastrique permanente subissant une stimulation par perfusion lente intraveineuse de 2-DDG.
Réponse sécrétoire d'une poche de Heidenhain à une stimulation de la zone antrale isolée.	Chien subissant une irrigation de la poche antrale par une solution de glycine.
	Chien subissant une irrigation de la poche antrale par une solution à pH 9,2.
Sécrétion gastrique non entretenue par l'administration d'une substance pharmacologique.	Rat ayant subi une ligature pylorique.
	Rat porteur d'une fistule transduodéno-pylorique aiguë.

Les protocoles opératoires précis observés pour chacune de ces techniques, leur étalonnage et leur étude critique, seront développés au cours des paragraphes suivants.

II.A.₃ — CHOIX DES TECHNIQUES GÉNÉRALES.

II.A.₃₋₁ — Diverses solutions utilisées.

— La solution de survie utilisée pour l'étude des contractions de fragments de jéjunum de rat est celle de Tyrode (1910) dont la composition se trouve rappelée par les tableaux 6 et 7.

TABLEAU 6

*Concentrations des sels
entrant dans la composition
de la solution de Tyrode.*

Substances	Concentrations (g/l)
NaCl	8,0
KCl	0,2
Mg Cl ₂	0,1
Ca Cl ₂	0,2
NaH ₂ PO ₄	0,05
Na H CO ₃	1,0

TABLEAU 7

*Concentrations ioniques
de la solution de Tyrode.*

Ions		Concentrations mEq/l
Anions	Cl ⁻	145,3
	H ₂ PO ₄ ⁻	0,4
	HCO ₃ ⁻	11,9
Cations	Na ⁺	149,2
	K ⁺	2,7
	Ca ⁺⁺	3,6
	Mg ⁺⁺	2,1

— Des solutions tampons à pH 1,5 et à pH 9,2 seront utilisées pour l'irrigation de la poche antrale du chien.

La solution à pH 1,5 est réalisée selon Clark & Lubs (1917), à partir de deux solutions de base :

A = solution de KCl 0,2 N (14,9 g/l);

B = solution de HCl 0,2 N.

Les proportions à respecter pour constituer la solution tampon à pH 1,5 sont de :

25 ml de solution A;

17 ml de solution B;

58 ml d'eau distillée.

La solution à pH 9,2 est préparée selon Delory & King (1945), à partir de deux solutions de base :

A = solution de carbonate de sodium anhydre 0,2 molaire (21,2 g/l).

B = solution de bicarbonate de sodium 0,2 molaire (16,8 g/l).

Le mélange des deux préparations se fait dans les proportions suivantes :

2 ml de solution A;

23 ml de solution B;

75 ml d'eau distillée.

— *Prélèvements.*

Dans le cas des fistulisations gastriques, le recueil sera toujours effectué par simple gravité, à l'orifice des canules, sans aucun rinçage supplémentaire à l'eau distillée. Toutefois, le sacrifice des rats à fistulisation transduodénopylorique à la fin de l'expérimentation permet de vider le contenu résiduel éventuel de l'estomac, non drainé par la canule.

Dans le cas des rats à ligature pylorique, l'estomac n'est prélevé qu'après nouvelle ligature au niveau du cardia.

— *Dosage de l'acidité.*

Pour tous les échantillons, les dosages des acidités libres et totales seront faits par une réaction acide-base, selon les techniques classiques utilisant la soude déci-normale et le virage du rouge à l'orangé du réactif de Topfer (ou p. diméthylamino-azobenzène) entre pH 3 et pH 4, puis le virage de l'incolore au rouge clair de la phénol-phtaléine, entre pH 8 et pH 10. Ces réactifs colorés sont en solutions alcooliques, dont les concentrations sont respectivement de 0,25 % et 1 %. Leur utilisation simultanée a été notamment préconisée par Lambling & Bernier (1964).

Une micro-burette de précision à piston (Strolhein) permet d'effectuer ces dosages sur des prélèvements de 0,1 ml avec une précision théorique de 1.10^{-3} ml de solution basique utilisée.

— *Dosage de l'activité protéolytique.*

Compte tenu de la grande variabilité de la sécrétion pepsinique chez le Rat (Dubrasquet, communication personnelle), l'activité protéolytique sera seulement mesurée pour le suc gastrique du Chien.

La méthode employée apprécie le nombre de radicaux phénoliques libérés en quinze minutes, à la suite de l'incubation à 37° C à pH 2 de 2 ml de suspension homogène de caséine à 2 p. 100, en présence de vingt microlitres de suc gastrique. Après précipitation trichloracétique de la caséine non dégradée (par une solution à 75 p. 100 d'acide trichloracétique) et centrifugation, les radicaux phénoliques sont évalués par absorption dans l'ultra-violet à 280 milli-microns, selon Northrop & Kunitz (1948). Le résultat est exprimé en moles de tyrosine libérées par minute d'incubation du substrat.

— *Dosage de la gastrine sérique.*

La technique utilisée est celle de Yalow & Berson (1970) dont les principes ont été rappelés par Accary & Bonfils (1971); les dosages ont été effectués par J.P. Accary (Unité de Recherche de gastro-entérologie — INSERM — U. 10); les limites de confiance de la méthode peuvent être évaluées à ± 10 pg/ml.

II.A.₃₋₃ — Conditions générales de réalisation des montages opératoires
chez le Chien.

— *Choix des animaux et soins préopératoires.*

Des chiens bâtards mâles, pesant entre 10 et 20 kg, sont retenus

pour leur docilité, leur bonne condition physique et leur pelage ras qui facilitera l'entretien et les soins futurs. Après un rapide déparasitage externe par pulvérisation d'un insecticide, ils sont soumis à un déparasitage interne en deux temps :

1°) Traitement des Helminthiases par TENIFUGOL (Institut Merieux), administré par voie orale à la dose de 4 g/kg, en une seule prise à jeun.

2°) Traitement complémentaire survenant quatre à cinq jours plus tard, destiné aux Nématodes rebelles (*Ascaris* et *Oxyures* en particulier), par un sirop de PIPERAZINE, à la dose d'une cuillerée à soupe par jour, pendant trois jours.

Dès le début de cette période de déparasitage, les animaux sont isolés dans des cages individuelles, où ils recevront, après huit jours de repos complet, une double vaccination comprenant :

- un vaccin monovalent, anti-Carré (VIROVAX, Institut Merieux);
- un vaccin destiné aux leptospiroses canines (LEPTODOG, Institut Merieux).

Ces injections, par voie sous-cutanée, ont lieu séparément dans la région dorsale postérieure; un mois plus tard, une vaccination de rappel par BIVIROVAX (Institut Merieux) assurera une protection pratiquement définitive contre la maladie de Carré et l'hépatite contagieuse.

Les animaux pourront subir une intervention chirurgicale quinze jours après la première vaccination. Ils seront alors à jeun depuis 24 heures et auront eu, la veille de l'opération, la face ventrale soigneusement rasée, depuis la pointe sternale jusqu'à la région sous-ombilicale.

— *Matériel.*

- Un laboratoire ordinaire, équipé d'une table d'opération adaptée à la morphologie du chien et d'un éclairage convenable par scialytique, sert de *salle opératoire*. Il semble superflu de prévoir un équipement permettant d'entretenir ou d'assister artificiellement la respiration; en revanche, il est toujours indispensable de mettre en œuvre un ensemble pour perfusions intraveineuses, et souvent utile de pouvoir disposer d'un aspirateur chirurgical et d'un appareil à thermocautérisation.

- Les *canules* destinées à être implantées dans l'estomac, quel que soit le niveau précis de l'insertion, correspondent en tout point à la description faite par Mignon & Bonfils (1967). Elles sont constituées d'un corps en nylon, ceinturé d'un tube en acier inoxydable, et comportent une embase dépourvue de protection métallique, qui restera plaquée, dans la lumière gastrique, contre la muqueuse.

- Le *matériel chirurgical* est constitué par les instruments les plus courants de la chirurgie digestive (ciseaux divers, pinces de Halstead, pinces Babcock, clamps de Doyen, écarteur de Gosset, ligatures, pinces passe-fil, pinces porte-aiguille...).

— *Equipe opératoire.*

Elle comprend toujours trois personnes; les deux premières res-

pectent les conditions classiques d'asepsie et participent seules, directement, à l'acte chirurgical, tandis que la troisième surveille l'anesthésie, les diverses perfusions, et présente les matériels nécessités par l'intervention.

— *Anesthésie.*

L'opération commence toujours dans la matinée, entre huit et neuf heures, par une injection intramusculaire de chlorpromazine, à la dose de 5 mg/kg. Cette phénothiazine à propriétés neuroleptiques provoque une sédation utile dans la phase de pré-anesthésie, prévient les vomissements et les hyperthermies postopératoires, et surtout potentialise nettement l'action des anesthésiques généraux.

Trente minutes plus tard, une injection lente, par voie intraveineuse, de quelques millilitres d'une solution aqueuse de thiopental sodique (NESDONAL, Specia), réalisée à la concentration de 1 g/10 ml, entraîne rapidement l'anesthésie générale. Le volume injecté, variable selon la sensibilité individuelle, doit être suffisant pour provoquer la disparition du réflexe palpébral et la contraction des muscles masséters.

Dès que l'anesthésie est complète, et pendant toute la durée de l'intervention, l'animal reçoit une perfusion intraveineuse de soluté injectable isotonique de glucose à 5 p. 100, à la vitesse de vingt gouttes par minute, dans une veine saphène postérieure, ou dans une veine tibiale antérieure. En cas de fragilité vasculaire particulière, il a été possible de placer la perfusion dans une veine sublinguale ou dans une veine jugulaire.

— *Laparotomie.*

Quelles que soient les variantes du montage opératoire envisagé, le premier temps de l'intervention commence toujours par une large incision des plans cutanés et musculaires, puis du péritoine; réalisée au bistouri ordinaire, elle s'étend de l'appendice xyphoïde à la zone sous-ombilicale et permet un abord facile de l'estomac et des anses intestinales.

Le panicle adipeux est alors excisé et l'hémostase rapidement assurée par quelques coagulations au thermocautère.

A la fin de l'opération, la paroi abdominale sera refermée en deux temps :

— La suture du péritoine et des couches musculaires sera réalisée en un seul plan, à l'aiguille de Reverdin, par points en X séparés. Pour cela, une ligature synthétique en dacron imprégné de téflon (POLYDEK n° 5, laboratoires Peters) est utilisée.

— Les limites de l'incision cutanée et sous-cutanée seront rapprochées par des points en U séparés, à l'aide de soie tressée n° 7 décimal.

— *Soins postopératoires.*

L'animal est maintenu sous surveillance étroite pendant trois à quatre jours. Il est placé dans une cage d'observation individuelle et réchauffé; dès qu'il manifeste des sensations douloureuses, com-

mence l'administration d'antispasmodique antalgique (VISCERALGINE forte, Riom laboratoires) par voie rectale ou intramusculaire. L'injection quotidienne de pénicillines et de dihydrostreptomycine (BIPENICILLINE-1 M, DIDROMYCINE 1 g, Specia) ne cessera qu'au bout de quatre jours.

D'un autre côté, comme le sujet n'est pas alimenté pendant toute cette période postopératoire immédiate, une abondante réhydratation électrolytique, protéique et vitaminée est réalisée en perfusions intra-veineuses ou sous-cutanées de :

- soluté injectable de NaCl 0,154 M (250 à 500 ml par jour);
- soluté polyvalent IONHYDRYL, IFFA Merieux (250 ml par jour).

L'alimentation par voie orale ne recommencera qu'au cinquième jour après l'intervention, par un repas lacté. Elle deviendra progressivement normale vers le huitième jour.

La plaie opératoire et le pourtour des canules sont l'objet de soins quotidiens attentifs; en général, un nettoyage méticuleux suivi d'un badigeon à l'alcool iodé suffisent à assurer une évolution rapide vers une excellente cicatrisation.

Enfin, les points de suture de la paroi cutanée sont enlevés en deux temps, huit et dix jours après l'opération.

II.A.₃₋₄ — Méthodes de traitement statistique des résultats.

— D'une façon générale, après vérification de la comparabilité des variances par le test F de Snedecor (1956), la recherche de la significativité de la différence enregistrée entre les résultats moyens relatifs à deux populations est faite par le test t de Student-Fisher.

— La détermination de la constante de dissociation K_{RE} du complexe formé par une substance pharmacologique et le site réceptif biologique, selon Arunlakshana & Schild (1959) est faite graphiquement, après tests de linéarité par un F d'analyse de variance de la régression de log. (x — 1) en [log. concentration molaire d'antagoniste], selon Gremy & Salmon (1969). Il s'agit donc de la même démarche mathématique que celle préconisée par Giudicelli (1971), et conduisant finalement à la recherche d'une différence significative (ou non) de la pente n de la droite de régression avec une pente de valeur 1.

— Pour les tableaux à double entrée permettant l'étude de la variation d'une moyenne en fonction de deux paramètres (par exemple, en fonction du groupe d'animaux et du moment d'expérimentation), l'étude de la stabilité de la moyenne est faite par une analyse de variance (F de Snedecor).

II.B. — TECHNIQUES D'EVALUATION, IN VITRO, DU TYPE ET DE L'INTENSITE DE L'ACTIVITE ANTICHOLINERGIQUE.

La revue bibliographique a fait apparaître que, pour un anticholi-

nergique, les doses nécessaires à la manifestation d'une activité antispasmodique au niveau de la musculature lisse du tractus digestif sont plus proches de celles qui exercent une activité antisécrétoire que des seuils auxquels surviennent les autres activités parasymphatholytiques (Innes & et Nickerson, 1970). Parmi les fragments d'organes empruntés à l'appareil digestif, van Rossum (1963) choisit le jéjunum de rat lorsqu'il veut évaluer une activité antimuscarinique, cet organe restant insensible à une stimulation nicotinique des cholinomimétiques utilisés. Pour ces raisons, le choix de l'effecteur biologique permettant d'évaluer l'activité antimuscarinique de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums, s'est porté sur le jéjunum de rat.

D'un autre côté, la quasi-unanimité des pharmacologues admettent désormais — au moins pour les cholinomimétiques — que les agonistes produisent une stimulation des tissus sensibles, en se combinant avec des sites réceptifs spécifiques (Rang & Ritter, 1969). Les revues et travaux récents de Kier (1967), Rey & Barbe (1967 et 1968), Korolkovas (1970), Ariens (1972) et Pacheco (1973) démontrent que la façon la plus rationnelle et la plus universellement admise, actuellement, pour appréhender l'interaction agoniste-antagoniste, procède des principes de la pharmacologie moléculaire. Ce sont donc les paramètres exprimant cette interaction, dans le cadre de la théorie d'occupation des récepteurs, qui seront utilisés pour caractériser l'action antimuscarinique des trois substances choisies.

II.B.₁ — PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL DE DÉTERMINATION IN VITRO DES PARAMÈTRES DÉFINISSANT L'INTERACTION AGONISTE-ANTAGONISTE AU NIVEAU DES RÉCEPTEURS CHOLINERGIQUES PÉRIPHÉRIQUES.

Des rats Wistar mâles, de 200 ± 20 grammes, à jeun depuis 24 heures, sont sacrifiés par rupture bulbaire. Le jéjunum est prélevé aussitôt et placé dans une solution de Tyrode.

L'organe est alors découpé en fragments de deux centimètres : l'un de ceux-ci est fixé par l'une de ses extrémités dans une cuve de van Rossum (1963) contenant la même solution de survie, tandis que son extrémité libre est reliée à un capteur de déplacements linéaires « C 10 » (Ifelec). Ce dernier, basé sur le principe du transformateur différentiel, fournit une tension électrique directement proportionnelle au déplacement de son noyau. Cette tension attaque un enregistreur Servotrace (Sefram) dont on peut faire varier le coefficient d'amplification.

Le fragment jéjunal est rincé plusieurs fois en quinze minutes. Une courbe cumulative de la réponse de l'organe à l'introduction dans la cuve, sans rinçages intermédiaires, de concentrations croissantes de l'agoniste, est enregistrée lorsque la température du bain se trouve stabilisée à 37°C . L'ensemble de la séquence expérimentale sera renouvelé jusqu'à ce que deux courbes consécutives soient semblables.

Eventuellement, le montage peut servir à l'étude de l'interaction d'un antagoniste avec l'agoniste précédemment retenu. Pour cela, un volume de 0,1 ml d'une solution 1.10^{-n} M d'antagoniste est introduit dans la cuve, où, du fait de la dilution réalisée, sa concentration

atteint $1.10^{-(n+2)}$ M. Après trois minutes de contact avec l'organe, la substance cholinomimétique se trouve ajoutée à la solution de Tyrode de la cuve, et ceci à des concentrations croissantes jusqu'à ce que la contraction maximale de l'organe soit à nouveau atteinte.

Chaque fragment jéjunal peut servir à la réalisation d'une vingtaine de tracés, où alternent une courbe témoin (agoniste seul) et une famille de courbes correspondant à différentes concentrations de l'antagoniste.

Le calcul des paramètres est conduit selon la technique de van Rossum (1963); il est toujours complété par une représentation graphique des variations moyennes de l'amplitude de contraction de l'organe isolé, en fonction des concentrations des deux substances. L'étude du parallélisme et de l'affaissement éventuel des courbes ainsi tracées donne une première approximation du caractère compétitif, non compétitif ou dualiste de l'antagonisme. La détermination mathématique de la probabilité de ce caractère est réalisée selon la méthode de la droite de régression pondérée des valeurs $\log. (x - 1)$ en fonction du $\log.$ de la concentration molaire de l'antagoniste, selon Arunlakshana & Schild (1959). La constante de dissociation du complexe [mole d'antagoniste/récepteur cholinergique], ou K_{RB} , est déterminée graphiquement par l'intersection de la droite de régression considérée avec l'axe des abscisses.

II.B.₂ — ETALONNAGE DE LA TECHNIQUE PAR EXPÉRIMENTATION DES SUBSTANCES AGONISTES.

Des exemples d'enregistrements de courbes cumulatives [concentration d'agoniste/réponse biologique] constituent la figure 4. Le niveau maximal de la contraction entraînée par les différentes concentrations molaires d'acétylcholine, de furtréthonium ou de carbachol sont nettement visibles, dans chaque cas. La lecture du graphe se trouve facilitée par le report, directement sur la feuille d'enregistrement, des concentrations molaires de chaque substance (exprimées en 10^{-7} moles par litre) au niveau de l'amplitude maximale de la contraction qu'elles provoquent. Ces concentrations suivent une progression géométrique dont le $\log.$ de la raison est de $1/2 \log. 10$, ce qui entraîne la séquence expérimentale suivante :

Remarque : Sur tous les tracés et pour tous les calculs des paramètres utilisés en pharmacologie moléculaire, l'usage veut que l'on utilise l'expression « concentration molaire » pour désigner la concentration d'équivalents basiques.

Ainsi, pour le méthylsulfate de N-méthylscopolammonium, le bromure de N-butylscopolammonium, le chlorure d'acétylcholine (etc.), tous sels monobasiques, la concentration d'équivalents basiques correspond bien à la concentration molaire des substances.

En revanche, pour le sulfate d'atropine, sel bi-basique, la concentration molaire réelle ne représente que la moitié de la concentration en équivalents basiques.

Néanmoins, l'expression « concentration molaire » désignera, également dans ce cas, la concentration en cations « atropine⁺ ».

TABLEAU 7 bis

Raison de la progression géométrique de la concentration molaire de l'agoniste dans la biophase : 3,3.

Solution ajoutée dans la cuve			Concentration molaire résultante (dans la cuve)
Concentrations (mole/l)	Volume		
	ml	Unités insuline	
10^{-5}	0,1	4	$1 \cdot 10^{-7}$
10^{-5}	0,2	8	$3 \cdot 10^{-7}$
10^{-4}	0,07	3	$1 \cdot 10^{-6}$
10^{-4}	0,2	8	$3 \cdot 10^{-6}$
10^{-3}	0,07	3	$1 \cdot 10^{-5}$
10^{-3}	0,2	8	$3 \cdot 10^{-5}$
10^{-2}	0,07	3	$1 \cdot 10^{-4}$
Etc.	Etc.	Etc.	Etc.

FIGURE 4

Exemples d'enregistrement de courbes cumulatives

Les caractéristiques techniques de l'enregistrement des courbes présentées à titre d'exemple sont les suivantes :

- vitesse de déroulement du papier : 25 mm/mn.
- mesure de l'élongation :

L'enregistreur est du type à potentiomètre asservi; l'amplificateur, à gain fixe, se trouve couplé à un atténuateur d'entrée, choisi, dans le cas présent, de telle façon qu'un signal électrique de 500 mV entraîne la déviation totale de la plume, soit 250 mm.

D'un autre côté, la sensibilité du capteur de déplacement est telle qu'un mouvement de 1 mm fournit une tension de sortie de 800 mV.

Ainsi, un déplacement réel de 1/10 de mm, au niveau du capteur (donc de l'organe) correspond à un enregistrement de $250 \text{ mm} \times \frac{80}{500} = 40 \text{ mm}$.

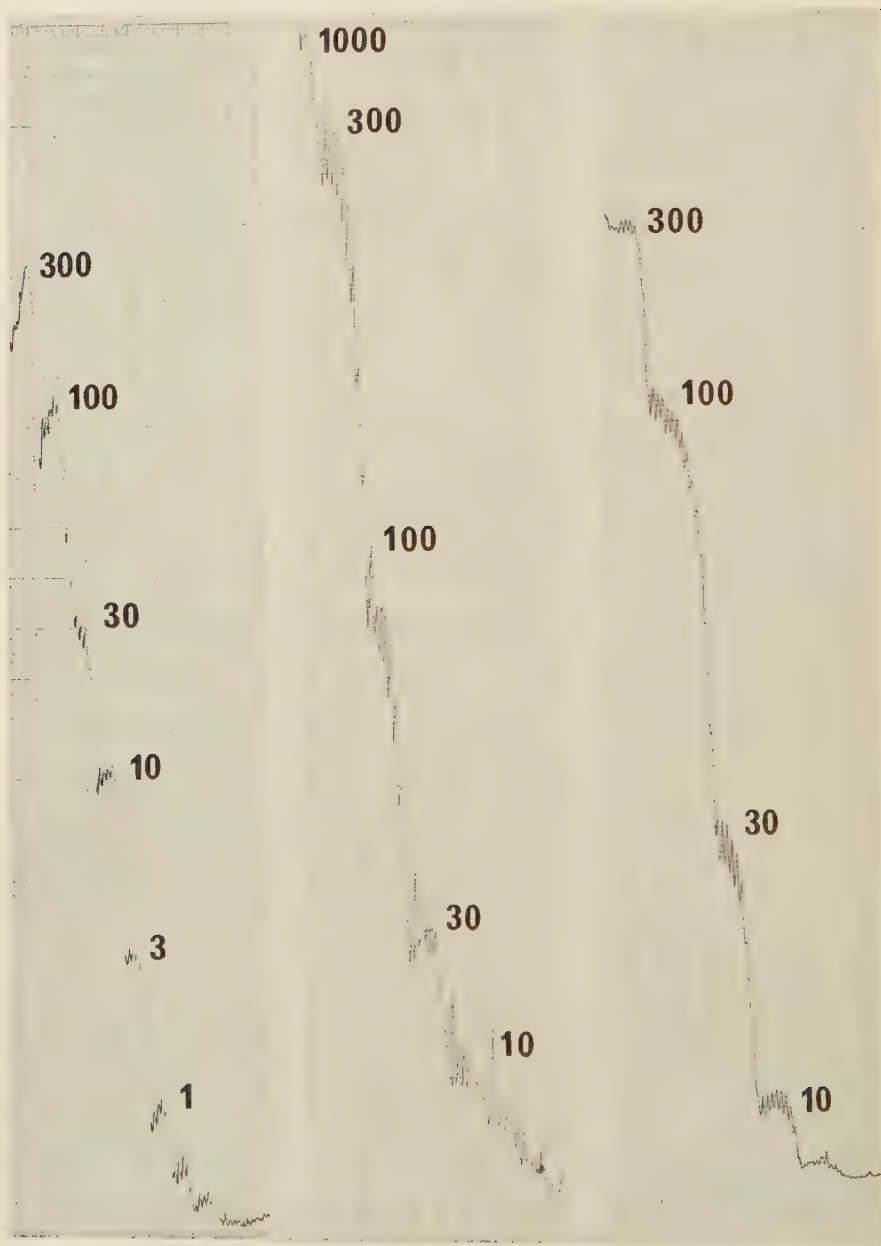
Les contractions de l'organe sont donc amplifiées 400 fois, dans nos conditions expérimentales.

Exemples d'enregistrement de courbes cumulatives.

ACÉTYLCHOLINE

FURTRÉTHONIUM

CARBACHOL



Concentration $\times 10^{-7}$ Moles/litre

FIGURE 4

Il est à noter que la position de départ du stylet inscripteur (état d'équilibre basal obtenu par l'application d'une force de 500 à 750 mg, et en l'absence de toute substance agoniste) se trouve à la droite du papier d'enregistrement lorsque celui-ci est observé dans le sens de son déroulement. Ainsi, les courbes enregistrées (figure 4) doivent être lues de droite à gauche, le papier se déroulant lui-même dans le sens opposé.

On peut considérer les exemples d'enregistrement reportés sur cette figure comme assez typiques des courbes généralement obtenues. La hauteur maximale de la contraction, quel que soit l'agoniste et quel que soit le fragment jéjunal placé dans la cuve de van Rossum, est finalement du même ordre de grandeur. Cela traduit à la fois une activité intrinsèque comparable pour ces trois agonistes (agonistes totaux) et une grande homogénéité du matériel expérimental (longueurs et sensibilités similaires pour les différents fragments de jéjunum). Hormis dans quelques cas d'utilisation de l'acétylcholine comme agent spasmogène, l'effet de « fading » a été rarement observé.

La détermination, selon van Rossum (1963), de l'affinité des trois agonistes, pour les récepteurs muscariniques, est effectuée à partir des courbes moyennes reportées sur la figure 5, et établies après une quarantaine d'expérimentations pour chaque produit. Les valeurs moyennes du paramètre pD_2 exprimant cette affinité, rappelées rapidement sur la figure elle-même, sont précisées par leur erreur standard sur le tableau 8.

TABLEAU 8

*Constantes d'affinité des cholinomimétiques
pour les récepteurs muscariniques du jéjunum de rat.*

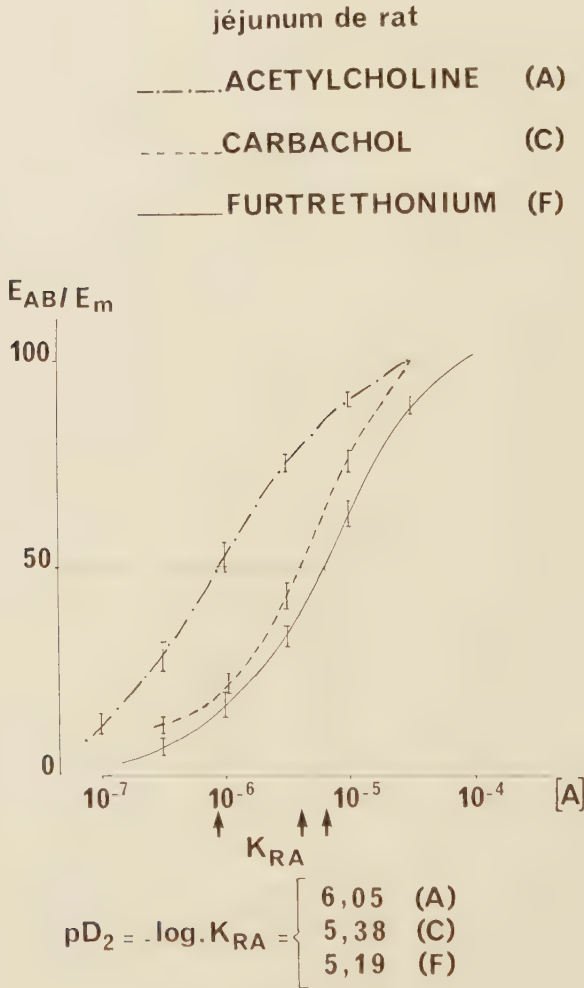
Agonistes	pD_2 moyen $\pm$ E.S. (n) (*)	Limites de l'intervalle de confiance à 5 p. 100
Acétylcholine seule	$6,05 \pm 0,056$ (40)	]5,94 , 6,16[
Acétylcholine + Esérine..	$6,25 \pm 0,158$ (40)	]5,93 , 6,58[
Furtréthonium	$5,19 \pm 0,148$ (34)	]4,90 , 5,48[
Carbachol	$5,38 \pm 0,087$ (40)	]5,21 , 5,55[

(*) E.S. : = erreur standard.

(n) = nombre de résultats expérimentaux.

FIGURE 5

Courbes doses-réponses relatives à l'acétylcholine, au carbachol et au furtréthonium, établies sur jéjunum de rat



Légende :

E_{AB}/E_m : Contractions enregistrées après introduction de diverses concentrations de l'agoniste. L'amplitude des contractions est exprimée en « pour cent » de l'amplitude maximale.

[A] : Concentration de l'agoniste A (moles/l).

K_{RA} : Constante de dissociation du complexe [substance A - récepteur R].

— $\log K_{RA}$ (= pD_2) : Paramètre représentatif de l'affinité de l'agoniste A pour le récepteur R.

II.B.₃ — CRITIQUE DE LA MÉTHODE UTILISÉE.

La critique fondamentale de la technique choisie pour déterminer l'activité anticholinergique tient au fait qu'elle s'appuie sur la théorie d'occupation des récepteurs, remise en question par différents auteurs dont Belleau (1964), Paton & Rang (1966) et Homer (1967). Cependant, les conceptions récentes de Ariens (1972) montrent que la théorie d'occupation s'adapte, en fait, harmonieusement aux théories complémentaires qui concourent à l'approche d'une même réalité. De ce fait, les paramètres « d'affinité » et « d'activité intrinsèque » deviennent, à la limite des constantes de proportionnalité, sans dimension. Dans l'état actuel des connaissances, ces paramètres demeurent les concepts les plus aptes à représenter la capacité d'activation du récepteur par la substance. A moins qu'il accepte de suivre les modèles mathématiques très complexes développés récemment par Thron (1973), le pharmacologue n'a pas à sa disposition de paramètres à la fois plus faciles à calculer, plus aisés à concevoir, plus élaborés et plus riches de renseignements que ceux qui sont proposés par la théorie d'occupation.

Une critique purement technique s'adresse au procédé dit « des courbes cumulatives ». Carrier & al. (1973) n'aboutissent pas à des résultats identiques lorsqu'ils opèrent selon la technique des déterminations point par point des courbes « doses-réponses », et lorsqu'ils suivent le procédé des courbes cumulatives. Les auteurs constatent que les formes des courbes obtenues selon ce dernier procédé semblent dépendre aussi bien de la séquence expérimentale choisie (concentrations et intervalles d'introduction dans la cuve) que de la nature de l'agoniste; aussi des réserves sont-elles formulées quant à la validité des paramètres calculés.

Il ne paraît pas, cependant, que ces critiques puissent remettre en question une technique qui présente l'avantage immense de permettre la construction rapide d'une famille de courbe « doses-réponses » comparables entre elles. Or, pour tout ce qui concerne les études conduites sur des organes maintenus en survie — et avec lesquels on cherche à obtenir une série de réponses pharmacologiques d'intensité maximale! —, il est bien connu que la brièveté d'utilisation du montage constitue l'un des handicaps majeurs auquel se trouve confronté l'expérimentateur. Venant après les vérifications réalisées par de nombreux auteurs, quelques déterminations de pD_2 ont été entreprises dans le cadre de cette étude selon le procédé des doses séparées. Le temps expérimental s'est trouvé quintuplé pour des résultats souvent très voisins de ceux qui sont présentés ici.

Comparons les résultats des mesures d'affinité (pD_2) qui ont été enregistrés à l'issue de ces expérimentations, aux résultats publiés précédemment. Dans les mêmes conditions expérimentales, van Rossum (1963) calculait un pD_2 de 6,5 pour l'acétylcholine et de 5,9 pour le furtréthonium. Les résultats présentés ici sont du même ordre, quoique inférieurs, tous deux, de un demi-point à ceux de van Rossum; ils sont, en revanche, absolument comparables aux moyennes présentées par Rey & Barbe (1968) qui trouvent $5,57 \pm 0,14$ puis $5,32 \pm 0,24$ pour la valeur du pD_2 du furtréthonium. Ces auteurs signalent qu'ils n'ont jamais pu enregistrer de valeur aussi élevée que celle qui fut publiée par van Rossum, et les présents résultats conduisent aux mêmes remarques. Quoi qu'il en soit, l'étalonnage

de la technique, telle qu'elle a été appliquée au cours de ces expérimentations, fournit des résultats qui recoupent les valeurs publiées antérieurement, pour l'acétylcholine et le furtréthonium. Il est donc permis de penser que la technique a été correctement mise en œuvre. La revue des publications n'a pas fourni d'éléments de comparaison pour le carbachol.

II.C. — TECHNIQUES D'ETUDE DE LA REPONSE SECRETOIRE GASTRIQUE CONSECUTIVE A UNE STIMULATION VAGALE.

Afin que la réponse sécrétoire à la stimulation vagale ne se trouve perturbée ni par le stress d'un montage opératoire récent, ni par le stress de la contrainte, ni par l'anesthésie, cette étude ne sera conduite que chez l'animal porteur d'une fistulisation gastrique permanente et habitué très progressivement aux conditions de l'expérience.

Conformément aux données bibliographiques, et dans le souci d'utiliser les techniques les plus couramment citées, la stimulation vagale sera provoquée par une injection unique d'insuline, chez le Rat par voie sous-cutanée, et chez le Chien par voie intraveineuse. En outre, et bien qu'elle soit de mise au point encore très récente (Mignon & al., 1971) et en conséquence peu pratiquée, la technique de la perfusion lente de 2-DDG par voie intraveineuse, chez le Chien, a également été retenue. Ce type de stimulation, qui contrairement à l'injection unique entretient un « plateau sécrétoire » et non pas un pic fugace, devrait compléter de façon intéressante le plan de travail choisi.

II.C.₁ — RECHERCHE D'UNE ACTIVITÉ ANTISÉCRÉTOIRE CHEZ LE RAT PORTEUR D'UNE FISTULISATION GASTRIQUE PERMANENTE ET SUBISSANT UNE STIMULATION VAGALE INSULINIQUE.

La détermination d'une activité antisécrétoire ne peut être réalisée que lorsque la relation [dose de stimulant/réponse sécrétoire] a été parfaitement précisée. Cet étalonnage préalable de la réponse, qui peut varier selon la souche d'animaux utilisée, permet le choix d'une dose d'insuline qui entraîne une réponse sécrétoire sub-maximale.

D'après les doses d'insuline préconisées par différents auteurs (cf. revue bibliographique), une gamme de doses allant de 0,05 unité jusqu'à 0,4 unité par animal de 280 à 350 grammes a été expérimentée.

II.C.₁₋₁ — Protocole expérimental.

Des rats Sprague-Dawley mâles, pesant 200 ± 20 grammes, sont soumis à un jeûne de 18 heures, avec eau ad libitum. A l'issue de cette diète et après légère anesthésie à l'éther, une laparotomie médiane permet l'abord de l'estomac. La canule qui va être mise en place dans le rumen est une canule de Komarov & al. (1963); sa tolérance par l'animal se trouve nettement améliorée par la fixation

— selon Bel & al. (1966) — d'une plaque circulaire de grillage en matière plastique (« Crinoplaque », laboratoires Fandre, Nancy) à trois mm de la flasque intragastrique, au moyen d'un liquide autopolymérisant (« Stellan », société de Trey, Paris). L'embase de cette canule est introduite directement par une incision pratiquée au niveau de la zone médiane la moins vascularisée du rumen; une suture en bourse assure son maintien. La paroi abdominale est refermée à la soie, en deux plans, après pulvérisation d'antibiotiques dans la plaie opératoire. Par la suite, les soins postopératoires se limiteront à un badigeon quotidien d'alcool iodé, pendant huit jours.

Trois semaines plus tard, les animaux peuvent servir à l'étude des antisécrétoires. Avant le début de chaque expérimentation, ils observent un jeûne de 18 heures, à l'issue duquel ils sont placés dans des cages individuelles en matière plastique (Makrolon), dont le plancher est muni d'une fente longitudinale large de un centimètre. Celle-ci permet le passage d'un tube en acier inoxydable dont le canal fileté se fixe sur la canule gastrique de l'animal; l'extrémité opposée est reliée à un cathéter de 12 à 15 centimètres de long. Ce montage, réalisé selon Lambert (1961), draine les sécrétions dans un tube à hémolyse, en permettant à l'animal une relative mobilité.

Les recueils sont relevés toutes les soixante minutes; les trois premiers échantillons conduisent à l'évaluation du niveau et de la stabilité de la sécrétion basale. Les animaux qui présentent un niveau de sécrétion spontanée anormalement élevé ou fluctuant sont écartés de l'expérimentation.

Lorsque le troisième recueil est effectué, l'insuline est injectée par voie sous-cutanée. L'essai de différentes doses de cette substance — de 0,05 à 0,4 unités par animal — permettra le choix définitif d'une dose entraînant une stimulation submaximale.

L'expérimentation se poursuivra pendant cinq heures après l'injection d'insuline; durant cette phase, deux injections sous-cutanées de 3 ml de soluté de NaCl 0,154 M tendront à corriger les pertes hydriques et électrolytiques des animaux. Afin de comparer la cinétique et l'intensité de la réponse obtenue avec les résultats publiés antérieurement par d'autres auteurs, les moyennes des volumes des sécrétions et des débits acides horaires ainsi que leurs erreurs standard sont calculées.

Par la suite, après qu'une dose d'insuline ait été définitivement retenue, les animaux subissent deux expérimentations par semaine. La première se déroule comme précédemment et servira de contrôle. La seconde, qui survient trois jours plus tard, permet l'étude de l'administration des substances anticholinergiques, par injection sous-cutanée, trente minutes avant la stimulation insulinique. Les séquences de doses d'anticholinergiques injectées sont proportionnelles aux paramètres d'affinité pour les récepteurs cholinergiques, déterminés précédemment *in vitro*.

L'activité antisécrétoire sera exprimée par le pourcentage d'inhibition du débit acide moyen de chaque groupe ($\mu\text{Eq}/5 \text{ h.}$), comparativement au débit acide moyen relevé lors de l'expérimentation de contrôle.

Les tableaux 9 et 10 représentent les variations moyennes des débits volumiques et acides horaires après injection des diverses doses d'insuline.

Il s'agit de six groupes de rats, comportant chacun sept individus; ils seront utilisés à six reprises, à raison de deux études par semaine. A chacune des séquences expérimentales, les animaux subissent la stimulation par une dose différente d'insuline, prise — selon les lois du hasard — dans la gamme suivante : 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 (unité par animal). Au total, 42 animaux différents auront été placés dans chacune des situations de l'expérience. Toutefois, certaines moyennes correspondent à des nombres de recueils inférieurs à 42; ceci est dû à l'élimination d'animaux ayant connu divers incidents au cours des manipulations.

A la lecture de ces tableaux, il faut tout d'abord remarquer que les débits horaires du groupe de contrôle fluctuent peu du deuxième

TABLEAU 9

*Relation entre la dose d'insuline injectée
et la réponse sécrétoire gastrique
du rat équipé d'une fistule permanente.*

Débit volumique moyen ($\pm$ erreur standard) exprimé en ml par heure.

Horaire des recueils	Doses d'insuline (unités d'insuline/rat de 280 à 350 g)					
	0 Contrôle	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4
1 ^{re} heure	1,08 $\pm$ 0,14	0,82 $\pm$ 0,09	0,85 $\pm$ 0,05	0,85 $\pm$ 0,05	0,89 $\pm$ 0,11	0,95 $\pm$ 0,09
2 ^e heure	0,87 $\pm$ 0,10	0,87 $\pm$ 0,05	0,89 $\pm$ 0,08	0,86 $\pm$ 0,07	0,90 $\pm$ 0,06	0,91 $\pm$ 0,10
3 ^e heure	0,92 $\pm$ 0,11	0,81 $\pm$ 0,05	0,86 $\pm$ 0,06	0,82 $\pm$ 0,06	0,89 $\pm$ 0,05	0,92 $\pm$ 0,10
Stimulation (injection par voie sous-cutanée)						
4 ^e heure	0,91 $\pm$ 0,13	0,80 $\pm$ 0,04	0,95 $\pm$ 0,10	0,78 $\pm$ 0,07	0,80 $\pm$ 0,07	0,79 $\pm$ 0,14
5 ^e heure	0,84 $\pm$ 0,09	1,09 $\pm$ 0,07	1,18 $\pm$ 0,08	1,12 $\pm$ 0,07	0,87 $\pm$ 0,07	0,90 $\pm$ 0,10
6 ^e heure	0,86 $\pm$ 0,12	0,97 $\pm$ 0,06	1,22 $\pm$ 0,08	1,47 $\pm$ 0,10	1,40 $\pm$ 0,10	1,30 $\pm$ 0,10
7 ^e heure	0,86 $\pm$ 0,10	0,94 $\pm$ 0,06	1,15 $\pm$ 0,08	1,21 $\pm$ 0,07	1,31 $\pm$ 0,12	1,30 $\pm$ 0,11
8 ^e heure	0,85 $\pm$ 0,11	0,92 $\pm$ 0,08	1,25 $\pm$ 0,09	0,77 $\pm$ 0,09	1,00 $\pm$ 0,13	1,01 $\pm$ 0,11
Nombre d'animaux par groupe	42	40	35	38	39	39

TABLEAU 10

*Relation entre la dose d'insuline injectée
et la réponse sécrétoire gastrique
du rat équipé d'une fistule permanente.*

Débit acide moyen ($\pm$ erreur standard)
en μEq d'ions H^+ par heure (acidité totale).

Horaire des recueils	Doses d'insuline (unités d'insuline/rat de 280 à 350 g)					
	0 Contrôle	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4
1 ^{re} heure	120 $\pm$ 13,5	107 $\pm$ 11,1	129 $\pm$ 7,32	103 $\pm$ 5,70	129 $\pm$ 11,4	119 $\pm$ 9,3
2 ^e heure	112 $\pm$ 18,1	125 $\pm$ 25,7	109 $\pm$ 6,60	107 $\pm$ 6,30	121 $\pm$ 11,5	111 $\pm$ 10,1
3 ^e heure	118 $\pm$ 20,1	108 $\pm$ 11,1	123 $\pm$ 7,32	109 $\pm$ 5,60	115 $\pm$ 12,2	102 $\pm$ 9,5
Stimulation (injection par voie sous-cutanée)						
4 ^e heure	123 $\pm$ 24,0	131 $\pm$ 11,2	144 $\pm$ 20,1	140 $\pm$ 8,9	134 $\pm$ 15,0	105 $\pm$ 16,9
5 ^e heure	115 $\pm$ 21,0	175 $\pm$ 13,9	186 $\pm$ 16,9	170 $\pm$ 11,7	163 $\pm$ 18,5	155 $\pm$ 21,1
6 ^e heure	116 $\pm$ 23,0	166 $\pm$ 15,1	186 $\pm$ 18,4	198 $\pm$ 14,7	226 $\pm$ 18,2	213 $\pm$ 20,5
7 ^e heure	121 $\pm$ 21,0	140 $\pm$ 12,8	179 $\pm$ 16,4	182 $\pm$ 13,2	201 $\pm$ 17,7	182 $\pm$ 25,0
8 ^e heure	118 $\pm$ 24,0	167 $\pm$ 22,8	195 $\pm$ 20,1	151 $\pm$ 13,8	171 $\pm$ 23,6	150 $\pm$ 19,0
Nombre d'animaux par groupe	42	40	35	38	39	39

au huitième recueil. Il faut observer ensuite que les animaux ayant reçu une injection d'insuline présentent un pic sécrétoire maximal au cours de la deuxième heure (pour la dose de 0,05 unité/animal) ou au cours de la troisième heure (pour les doses égales ou supérieures à 0,1 U/animal) qui suivent cette stimulation. Enfin, il apparaît que la réponse sécrétoire maximale acide correspond à la dose de 0,3 unité d'insuline par animal tandis que la réponse maximale volumique est atteinte dès la dose de 0,2 unité par animal. Etant donné les poids des sujets qui sont utilisés ici, les pics des débits horaires apparaissent donc à des doses d'insuline :

- de 0,9 à 1,1 unité/kg pour le pic acide;
- de 0,6 à 0,8 unité/kg pour le pic volumique.

En fonction de ces résultats, la dose susceptible d'entraîner une réponse sécrétoire submaximale est donc fixée à 0,2 unité d'insuline par animal (soit 0,6 à 0,8 U/kg).

Si l'on compare les résultats enregistrés ici avec ceux qui ont été publiés précédemment, on s'aperçoit que Lee & Thompson (1969) ont évalué exactement aux mêmes niveaux (0,8 et 1 unité par kg) les doses d'insuline entraînant, chez le rat à fistulisation gastrique, après injection sous-cutanée, des réponses sécrétoires maximales.

La dose finalement retenue (0,2 unité d'insuline par rat de 280 à 350 grammes) fut aussi préconisée par Lane & al. (1957). Les auteurs notent un maximum de la réponse sécrétoire au cours de la deuxième heure qui suit la stimulation, alors qu'il s'est plutôt manifesté au cours de la troisième heure durant les présentes expérimentations. Par ailleurs, l'intensité des réponses observées est tout à fait comparable puisque, dans les deux cas, les débits acides et volumiques ont presque doublé. Toutefois, les valeurs moyennes calculées ici sont inférieures d'environ 30 p. 100 (aussi bien chez les animaux de contrôle que chez les animaux ayant reçu l'injection d'insuline) à celles qui sont rapportées par Lane & al. Ces divergences peuvent provenir de l'utilisation de deux souches de rats non identiques.

Une critique fondamentale pourrait résulter du fait que notre programme expérimental prévoit l'étude de trois antisécrétoires, chacun à plusieurs doses, et au rythme de deux expérimentations par semaine (dont une de contrôle). Autrement dit, comme la possibilité d'utilisation des animaux porteurs de fistulisation gastrique permanente s'est trouvée limitée, au cours de ces études, à une durée moyenne de huit semaines, il est évident que cette détermination nécessitera plusieurs lots différents d'animaux. Dès lors se pose la question de savoir si des lots de 13 à 16 individus sont comparables entre eux, et si les résultats enregistrés avec le même groupe, à plusieurs semaines d'intervalle, restent également comparables. Pour répondre à cette question, une expérimentation préalable complémentaire a été organisée. Trois groupes d'animaux numérotés A, B et C ont subi, simultanément, une stimulation insulinique hebdomadaire à la dose entraînant une réponse submaximale (0,2 unité par rat en injection sous-cutanée), et ceci pendant six semaines. Une triple comparaison statistique des résultats a été organisée (comparabilité des groupes pour une même séquence expérimentale; comparabilité dans le temps des résultats d'un même groupe; enfin, comparabilité générale des moyennes quels que soient le groupe et le moment de l'expérimentation). Les résultats sont regroupés sur le tableau 11. Celui-ci met en évidence l'absence totale de différence statistiquement significative pour les résultats relatifs aux groupes A, B et C s'ils sont comparés séparément pour chaque expérimentation hebdomadaire. Autrement dit, à un moment expérimental précis, il n'y a pas de différence entre les groupes.

L'étude des variations des résultats dans le temps montre qu'un groupe sur trois présente des différences statistiquement significatives dans l'ensemble. Il faut aussi observer que toutes les séries voient la réponse sécrétoire régulièrement augmenter au fil des semaines (en fonction, probablement, de l'augmentation du poids des animaux).

Enfin, la comparaison générale de tous les résultats fait apparaître une différence entre les débits acides moyens relatifs à chaque groupe expérimental, significative, dans l'ensemble.

TABLEAU 11

*Etude de la comparabilité et de la stabilité
dans le temps des débits sécrétoires acide,
chez différents groupes de rats porteurs d'une fistule chronique
et subissant une stimulation insulínique.*

- Rats SPRAGUE-DAWLEY, mâles (180 grammes lors de l'implantation de la canule; 280 à 350 grammes pendant la période de stimulation).
- Stimulation par injection unique d'insuline (S.C.) à la dose de 0,2 unité/animal.
- Cinq heures d'étude à partir de la stimulation.
- Une expérience par semaine.

N° de l'exp.	Débit acide moyen ($\mu\text{Eq}/5\text{ h}$) + erreur standard (nombre de recueils) (§)			Etude de la comparabilité entre les groupes
	Groupe A (13 animaux)	Groupe B (16 animaux)	Groupe C (16 animaux)	
1	605 $\pm$ 61,6 (12)	716 $\pm$ 46,3 (15)	688 $\pm$ 51,4 (14)	$F_{38}^2 = 1,143$ M.N.S.
2	687 $\pm$ 38,4 (11)	728 $\pm$ 39,1 (14)	690 $\pm$ 34,2 (15)	$F_{38}^2 = 0,37$ M.N.S.
3	727 $\pm$ 21,4 (9)	727 $\pm$ 45,7 (16)	736 $\pm$ 37,2 (12)	$F_{35}^2 = 0,014$ M.N.S.
4	788 $\pm$ 70,8 (12)	774 $\pm$ 74,5 (16)	748 $\pm$ 45,7 (13)	$F_{39}^2 = 0,087$ M.N.S.
5	775 $\pm$ 49,1 (13)	837 $\pm$ 59,5 (15)	757 $\pm$ 41,3 (16)	$F_{41}^2 = 0,724$ M.N.S.
6	865 $\pm$ 66,5 (12)	932 $\pm$ 99,2 (11)	771 $\pm$ 40,5 (14)	$F_{34}^2 = 1,43$ M.N.S.
Stabilité dans le temps	$F_{65}^5 = 2,674$	$F_{81}^5 = 1,665$	$F_{79}^5 = 0,698$	Comparaison générale
	P < 0,05	M.N.S.	M.N.S.	$F_{225}^{17} = 1,703$ P < 0,05

(§) Le nombre de recueils est parfois inférieur au nombre d'animaux constituant le lot, car certains sujets, non parfaitement à jeun ou en mauvaise condition physique, ont été écartés de l'expérimentation.

M.N.S.: Moyennes non significativement différentes dans l'ensemble (P > 0,05).

Cette non-comparabilité des résultats, dans l'ensemble, nous a conduits à opter pour la stricte comparaison, à l'intérieur d'un même groupe, des résultats obtenus en présence et en absence d'antisécrétoires, les deux expérimentations étant réalisées à trois jours d'intervalle. Les animaux sont alors leurs propres témoins, au cours de la même semaine, ce qui évite à la fois les fluctuations observées d'un groupe à l'autre et les fluctuations observées dans le temps, pour un groupe donné.

En dépit de ces précautions, les variations individuelles sont très importantes. Un ensemble de 38 animaux utilisés dans les conditions ci-dessus, a eu un débit sécrétoire moyen, sur cinq heures, de $597 \pm 46,4 \mu\text{Eq}$ (absence de stimulation), puis trois jours plus tard, de $843 \pm 49,8 \mu\text{Eq}$ (stimulation insulinique). La différence entre ces deux moyennes est très significative ($t = 3,649$ et $p < 0,001$) mais il faudra tout de même se garder de tenir pour interprétable une « inhibition » qui serait à la limite d'une significativité statistique.

II.C.₂ — RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTISECRETOIRE CHEZ LE CHIEN PORTEUR D'UNE FISTULISATION GASTRIQUE PERMANENTE ET SUBISSANT UNE STIMULATION. VAGALE INSULINIQUE.

II.C.₂₋₁ — Protocole expérimental.

— *Mise en place de la canule.*

Une incision de la paroi gastrique est pratiquée latéralement sur deux à trois centimètres, au niveau de la jonction antrofundique, à deux centimètres de la grande courbure. Cette ouverture, dont l'hémostase des brèches est assurée par quelques pinces de Babcock, est suffisante pour que soit introduite la canule munie d'un bouchon tronconique en téflon. La forme effilée de celui-ci facilitera le perçage, par forci-pression, de la paroi antrale, à l'aplomb de la ligne médiane générale de l'animal. Ainsi, l'embase de la canule sera située dans la partie la plus basse de l'estomac lorsque l'animal sera placé dans un « Pavlov-stand », ce qui assurera un bon drainage par gravité de toutes les sécrétions.

Une suture en bourse à la soie tressée (n° 4 décimal) maintient les tissus contre la collerette de fixation gastrique. La fermeture de l'incision initiale de la paroi gastrique se fait en deux temps :

— les berges de la muqueuse et de la sous-muqueuse subissent une suture enfouissante par utilisation de catgut chromé (n° 3 décimal);

— les couches tissulaires de la musculo-séreuse sont réunies par un surjet simple à la soie tressée (n° 3 décimal).

Le franchissement de la paroi musculaire termine le montage. Pour cela, l'emploi d'une pointe effilée qui perce la peau puis les

muscles, à l'aplomb de la canule, est indispensable. Elle vient se visser sur un raccord tronconique adapté à la canule et permet l'extériorisation de l'extrémité de celle-ci.

Trois animaux, numérotés FD 3, FD 4 et FD 5 ont subi cette préparation. Ils seront susceptibles d'être utilisés en expérimentation trois semaines après l'intervention.

— *Stimulation insulinique.*

A l'issue d'un jeûne de 18 heures, l'animal est conduit dans la salle d'expérimentation et placé sur un support classique (« Pavlov-stand ») auquel il a été progressivement habitué, pendant une semaine, à garder une immobilité prolongée.

Le bouchon de la canule est enlevé et la fistulisation rapidement rincée avec 20 ml d'eau tiédie. Deux recueils de quinze minutes, en absence de toute stimulation pharmacologique, permettent de s'assurer que l'animal ne présente pas de sécrétion spontanée dont le volume soit supérieur à 5 ml par 15 minutes. Dans le cas contraire, une sécrétion basale anormalement élevée (et qui peut être due à diverses stimulations « accidentelles ») contraint l'expérimentateur à retarder la stimulation insulinique jusqu'à ce que la sécrétion basale retrouve un faible débit. Si cette condition n'est pas remplie après 90 minutes d'observation, l'expérimentation est reportée.

La stimulation insulinique n'intervient donc que sur un animal parfaitement à jeun et en situation de repos physiologique gastrique. Elle consiste en une injection rapide, par voie intraveineuse, d'insuline ordinaire (ENDOPANCRINE*, Laboratoires Organon) en soluté injectable titrant dix unités au millilitre. Les recueils fractionnés de la sécrétion (à intervalles de quinze minutes) sont alors poursuivis pendant trois heures, et les dosages habituels effectués.

Chaque animal fait donc l'objet de deux expérimentations par semaine.

Ainsi que cela vient d'être décrit pour le Rat, l'établissement de la courbe représentant la réponse sécrétoire en fonction de la dose d'insuline peut seul permettre le choix définitif d'une dose entraînant une réponse submaximale. La dose optimale le plus souvent préconisée par les auteurs est de 0,5 unité/kg. Toutefois, Stening & Grossman (1970 b) optent pour la dose de 0,25 U/kg. La gamme d'étalonnage s'est donc située ici entre 0,2 et 0,5 unité/kg.

— *Recherche de l'inhibition exercée par un anticholinergique.*

Par la suite, après qu'une dose d'insuline entraînant une réponse sécrétoire submaximale ait été définitivement retenue, les animaux subiront deux expérimentations par semaine. La première se déroulera comme ci-dessus et servira de contrôle; au cours de la seconde, une administration par voie intraveineuse de la substance anticholinergique à l'étude sera faite, simultanément à l'injection d'insuline.

Les séquences des doses d'anticholinergiques injectées seront proportionnelles aux paramètres d'affinité pour les récepteurs cholinergiques tels qu'ils auront été déterminés *in vitro*.

L'activité antisécrétoire sera exprimée par le pourcentage d'inhi-

bition du débit sécrétoire moyen (pour les trois heures qui suivent l'injection d'insuline), comparativement au résultat relatif à l'expérimentation de contrôle.

II.C.₂₋₂ — Etalonnage de la technique.

Les chiens porteurs d'une fistulisation gastrique permanente, numérotés FD₃, FD₄ et FD₅ serviront pour cette étude. Les variations des débits sécrétoires acides moyens (mEq/15 mn), selon les doses d'insuline administrées, sont reportées sur les tableaux 12, 13 et 14. Il apparaît que pour les chiens FD₃ et FD₄, le débit sécrétoire acide

TABLEAU 12

Variations du débit gastrique acide (acidité totale) chez le chien FD₃, en réponse à l'injection I.V. rapide de différentes doses d'insuline (1).

N° des échantillons (15 mn)	Dose d'insuline (unité/kg) (2)			
	0,2	0,3	0,4	0,5
	M(*) ± E.S.	M ± E.S.	M ± E.S.	M ± E.S.
1	0,50 ± 0,04	0,14 ± 0,026	0,24 ± 0,07	0,25 ± 0,08
2	2,00 ± 0,41	0,82 ± 0,50	2,6 ± 0,35	3,5 ± 0,39
3	3,90 ± 0,80	5,1 ± 1,16	8,0 ± 1,10	6,9 ± 0,93
4	3,70 ± 0,72	5,1 ± 0,81	7,3 ± 1,15	8,6 ± 1,14
5	2,10 ± 0,63	5,0 ± 1,48	5,2 ± 0,88	7,8 ± 1,39
6	2,00 ± 0,50	4,7 ± 0,82	5,7 ± 0,93	7,9 ± 1,55
7	2,30 ± 0,55	3,8 ± 0,80	5,0 ± 0,90	3,5 ± 1,01
8	0,75 ± 0,40	2,7 ± 0,10	4,0 ± 0,59	3,6 ± 0,93
9	0,79 ± 0,33	2,5 ± 0,41	2,1 ± 0,38	2,3 ± 0,83
10	0,60 ± 0,22	2,1 ± 0,82	2,8 ± 0,70	1,8 ± 0,85
11	0,81 ± 0,47	1,4 ± 0,32	2,0 ± 0,60	1,1 ± 0,70
12	0,74 ± 0,23	0,9 ± 0,19	1,8 ± 0,51	1,0 ± 0,59
Débit total moyen (mEq/3 h)	20,19	34,38	46,74	48,25

(1) L'animal porte une fistule gastrique chronique.

(2) Chaque dose d'insuline a été essayée à trois reprises, sauf pour la dose de 0,3 unité/kg qui a été utilisée cinq fois.

(*) Les moyennes M des débits acides (mEq/15 mn) sont suivies de leur erreur standard (E.S.).

TABLEAU 13

Variations du débit gastrique acide (acidité totale) chez le chien FD₁, en réponse à l'injection I.V. rapide de différentes doses d'insuline (1).

N° des échantillons (15 mn)	Dose d'insuline (unité/kg) (2)			
	0,2	0,3	0,4	0,5
	M(*) ± E.S.	M ± E.S.	M ± E.S.	M ± E.S.
1	0,21 ± 0,04	0,46 ± 0,06	0,50 ± 0,10	0,34 ± 0,07
2	0,98 ± 0,33	1,28 ± 0,58	3,1 ± 0,61	3,3 ± 0,60
3	2,8 ± 0,71	4,9 ± 1,41	8,7 ± 0,65	8,2 ± 0,75
4	2,9 ± 1,35	6,3 ± 1,71	10,2 ± 1,05	8,2 ± 1,40
5	2,5 ± 0,92	4,5 ± 0,79	4,8 ± 0,95	6,1 ± 1,00
6	2,0 ± 0,57	3,4 ± 0,24	4,0 ± 0,59	5,0 ± 0,39
7	2,1 ± 0,25	3,9 ± 0,68	3,6 ± 0,41	3,0 ± 0,45
8	1,4 ± 0,51	2,3 ± 0,54	2,4 ± 0,61	3,3 ± 0,31
9	1,2 ± 0,40	2,9 ± 0,83	2,6 ± 0,71	2,8 ± 0,45
10	0,91 ± 0,23	1,9 ± 0,54	1,1 ± 0,60	2,4 ± 0,51
11	0,70 ± 0,22	1,8 ± 0,66	0,96 ± 0,45	2,3 ± 0,55
12	0,79 ± 0,25	1,2 ± 0,60	0,66 ± 0,62	2,0 ± 0,70
Débit total moyen (mEq/3 h)	18,49	35,11	42,62	46,94

(1) L'animal porte une fistule gastrique chronique.

(2) Chaque dose d'insuline a été essayée à trois reprises, sauf pour la dose de 0,3 unité/kg qui a été utilisée cinq fois.

(*) Les moyennes M des débits acides (mEq/15 mn) sont suivies de leur erreur standard (E.S.).

TABLEAU 14

Variations du débit gastrique acide (acidité totale) chez le chien FD₅, en réponse à l'injection I.V. rapide de différentes doses d'insuline (1).

N° des échantillons (15 mn)	Dose d'insuline (unité/kg) (2)			
	0,2	0,3	0,4	0,5
	M(*) ± E.S.	M ± E.S.	M ± E.S.	M ± E.S.
1	0,15 ± 0,07	0,21 ± 0,09	0,18 ± 0,02	0,25 ± 0,06
2	2,5 ± 0,51	2,6 ± 0,43	2,0 ± 0,58	1,5 ± 0,61
3	4,2 ± 0,62	5,9 ± 0,81	4,6 ± 0,90	4,6 ± 0,69
4	5,0 ± 0,71	5,8 ± 0,90	5,9 ± 1,10	5,5 ± 0,51
5	3,8 ± 0,54	4,5 ± 0,71	5,5 ± 0,95	5,0 ± 0,63
6	4,1 ± 0,79	4,0 ± 0,51	4,2 ± 0,81	4,1 ± 0,68
7	3,0 ± 0,43	4,2 ± 0,43	4,5 ± 0,35	4,2 ± 0,24
8	2,5 ± 0,54	3,8 ± 0,46	4,0 ± 0,54	3,8 ± 0,57
9	0,6 ± 0,57	3,0 ± 0,34	3,8 ± 0,82	4,0 ± 0,66
10	0,5 ± 0,81	3,1 ± 0,36	3,0 ± 0,71	3,2 ± 0,63
11	0,4 ± 0,32	2,1 ± 0,50	3,6 ± 0,73	3,7 ± 0,39
12	0,2 ± 0,24	1,0 ± 0,51	1,5 ± 0,35	2,2 ± 0,29
Débit total moyen (mEq/3 h)	26,95	40,2	42,78	42,05

(1) L'animal porte une fistule gastrique chronique.

(2) Chaque dose d'insuline a été essayée à trois reprises, sauf pour la dose de 0,3 unité/kg qui a été utilisée six fois.

(*) Les moyennes M des débits acides (mEq/15 mn) sont suivies de leur erreur standard (E.S.).

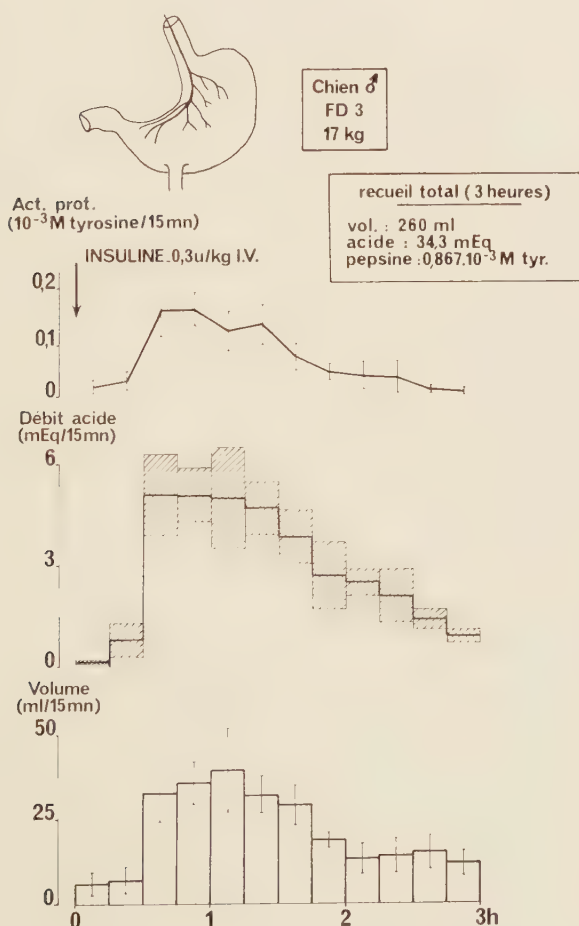
maximal, sur trois heures, reste compris entre 45 et 50 mEq; il est obtenu après l'injection d'une dose d'insuline voisine de 0,5 unité/kg. Le chien FD₅ se singularise par une réponse maximale apparaissant dès la dose de 0,4 unité/kg d'insuline mais qui s'élève également jusqu'à 43 mEq/3 heures.

Ainsi, les trois animaux présentent un certain caractère d'homogénéité et il a été décidé de retenir une dose unique pour les trois

sujets qui, dans tous les cas, entraînera une réponse submaximale; cette dose a été fixée à 0,3 unité par kg. Chaque animal, utilisé six fois à la dose définitivement choisie, est alors caractérisé par une certaine cinétique de réponse. Les courbes relatives à ces résultats se trouvent représentées sur les figures 6, 7 et 8.

FIGURE 6

*Caractéristiques de la réponse sécrétoire du Chien FD₃
à une stimulation vagale
par injection intraveineuse rapide d'insuline (0,3 U/kg)*



Légende :

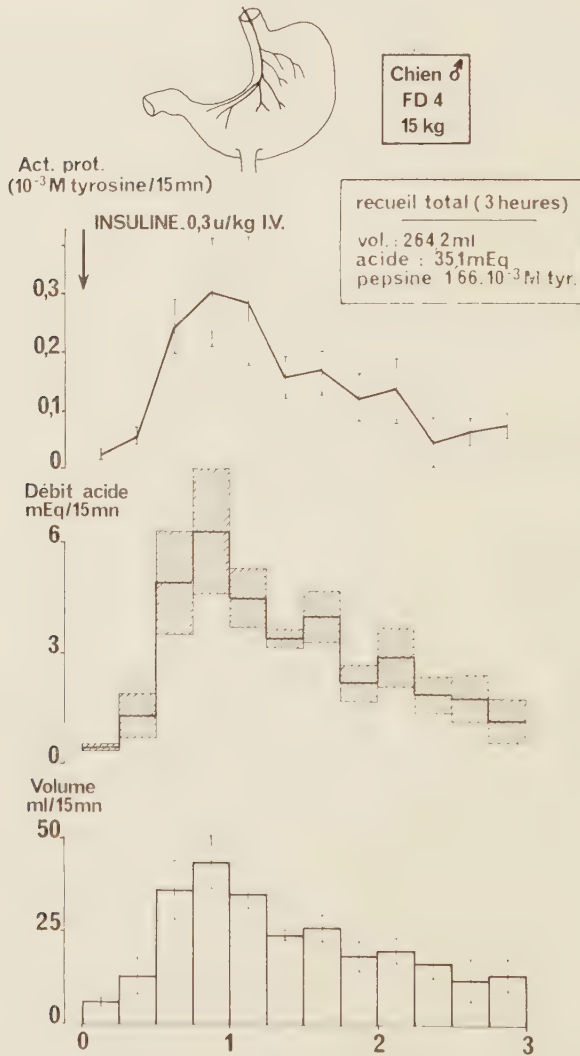
Act. prot. : activité protéolytique.

Acide : débit acide (acidité totale).

Vol. : volume des sécrétions.

FIGURE 7

*Caractéristiques de la réponse sécrétoire du Chien FD₄
à une stimulation vagale
par injection intraveineuse rapide d'insuline (0,3 U/kg)*



Légende :

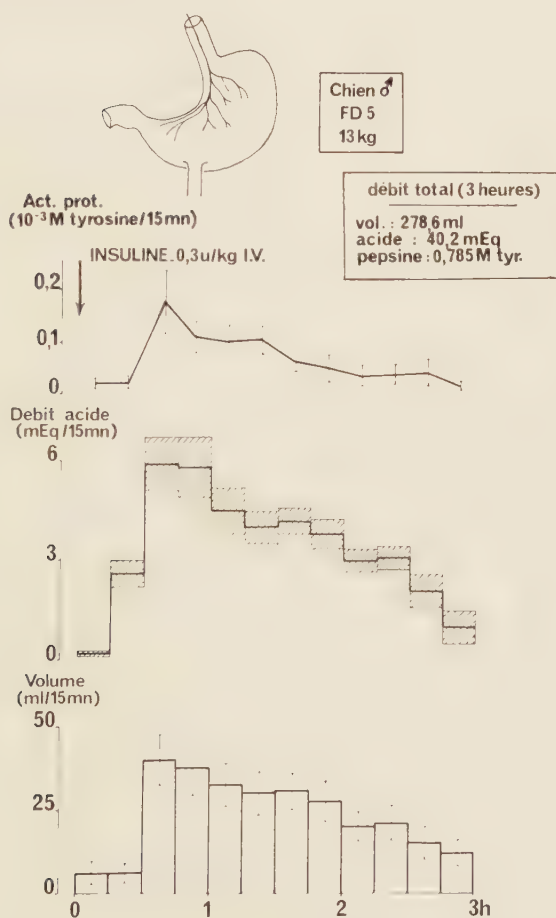
Act. prot. : activité protéolytique.

Acide : débit acide (acidité totale).

Vol. : volume des sécrétions.

FIGURE 8

*Caractéristiques de la réponse sécrétoire du Chien FD₅
à une stimulation vagale
par injection intraveineuse rapide d'insuline (0,3 U/kg)*



Légende :

Act. prot. : activité protéolytique.

Acide : débit acide (acidité totale).

Vol. : volume des sécrétions.

Chez les trois chiens, le pic sécrétoire maximal est apparu au troisième ou au quatrième recueil, quel que soit le paramètre considéré; ce pic se situe toujours (pour une fraction de quinze minutes) entre 5 à 6 mEq d'ions H^+ , 0,15 à 0,30 mM de tyrosine, et entre 35 et 40 ml de sécrétions. Après avoir atteint ce pic en une montée relativement rapide, les courbes déclinent régulièrement pour revenir à un niveau légèrement supérieur au niveau de départ, à l'issue des trois heures de recueil. En ce qui concerne le débit total moyen, c'est la grande homogénéité des réponses obtenues chez les différents animaux, pour les débits volumique et acide, qui retient l'attention. En revanche, le débit pepsinique du chien FD_4 est le double de ceux des deux autres sujets et il s'agit là du paramètre présentant les plus grandes fluctuations individuelles.

II.C.2-3 — Discussion de la technique choisie.

A côté des critiques générales que l'on peut faire à la fistulisation gastrique directe (et qui ont été rappelées au cours de la synthèse bibliographique), il faut encore signaler la critique fondamentale qui s'adresse à toute stimulation unique; celle-ci provoque une réponse caractérisée par un pic et non pas par un plateau, et son inhibition sera très difficile à interpréter. Cependant, il s'agit davantage, dans le cadre de ce travail, de comparer les résultats obtenus par l'utilisation de diverses techniques plutôt que d'affiner leur mode d'expression. Comme la technique de la stimulation vagale par injection unique d'insuline reste, tout de même, très employée, l'expérimentation selon ce procédé semble absolument s'imposer.

Afin d'apprécier la situation de nos résultats par rapport à la norme généralement admise, il convient maintenant de les comparer avec ceux qui ont été publiés par divers auteurs.

Dans des conditions expérimentales similaires, Davis & Brooks (1962) insistent sur la grande variabilité, chez le même sujet, de la réponse sécrétoire enregistrée à la suite de l'injection d'insuline chez le Chien. A la dose de 1,5 unité par kg (I.V.), le débit maximal moyen variait de $0,60 \pm 0,15$ mEq/30 mn à $2,60 \pm 0,40$ mEq/30 mn (pour cinquante expérimentations). Ces résultats sont difficilement comparables avec ceux des chiens FD_3 , FD_4 ou FD_5 , puisque la plus faible dose utilisée (0,20 U/kg) entraîne déjà des débits très supérieurs. Toutefois, la très grande fluctuation des résultats a été également constamment observée au cours de nos expérimentations et l'importance des erreurs standards en est un reflet significatif. Il faut remarquer que ces fluctuations ont d'ailleurs une amplitude relative d'autant plus considérable que la dose de stimulant employée est faible.

Connell & al. (1968) obtiennent des réponses sécrétoires beaucoup plus élevées puisqu'à la suite de l'injection par voie intraveineuse d'insuline, à la dose de 0,15 unité/kg, ils notent un pic sécrétoire de 7 mEq/15 mn, supérieur au débit maximal enregistré chez les chiens FD_3 , FD_4 et FD_5 pour la dose de 0,20 unité/kg.

Finalement, les résultats présentés sur les tableaux 12, 13 et 14 sont tout à fait comparables à ceux de Vagne & Grossman (1969) ou de Stening & Grossman (1970 b) qui rapportent respectivement des

pics acides de 5 mEq/15 mn et de 6,2 mEq/15 mn à la dose d'insuline de 0,5 unité/kg. L'étalonnage de la technique choisie montre donc qu'elle semble avoir été correctement mise en œuvre.

II.C.₃ — RECHERCHE D'UNE ACTIVITÉ ANTISÉCRÉTOIRE CHEZ LE CHIEN PORTEUR D'UNE FISTULISATION GASTRIQUE PERMANENTE ET SUBISSANT UNE STIMULATION VAGALE PAR LE 2-DDG.

II.C.₃₋₁ — Protocole expérimental.

— *Mise en place de la canule.*

La phase opératoire a été décrite précédemment (chapitre relatif à la stimulation insulinique).

— *Stimulation par le 2-DDG.*

C'est la méthode de Mignon & al. (1971), réalisant une perfusion lente par voie intraveineuse d'une solution de 2-DDG, qui a été utilisée.

Après une période d'observation d'au moins trente minutes pour vérifier l'absence d'une sécrétion basale dont le volume serait supérieur à 5 ml/15 mn, le chien, à jeun depuis 18 heures, est placé sur un « Pavlov-stand » et reçoit une perfusion lente d'une dissolution de 2-DDG dans une solution de NaCl 0,154 M, à la vitesse de 60 ml par heure. La perfusion, ainsi que les recueils (par fractions de quinze minutes), se poursuivent pendant quatre heures.

Deux expérimentations sont entreprises, chaque semaine, avec le même animal. Les chiens FD₃ et FD₄ ont été retenus pour subir ce type de stimulation.

Dans un premier temps, afin d'effectuer le choix d'une dose de stimulant entraînant une réponse submaximale, et compte tenu des résultats publiés par les auteurs de la technique, le 2-déoxy-D-glucose a été administré à chaque animal à trois doses différentes.

— *Recherche de l'inhibition exercée par un anticholinergique.*

Par la suite, lorsqu'une dose de 2-DDG suffisante pour entraîner une réponse sécrétoire submaximale aura été définitivement déterminée, les animaux subiront toujours deux expérimentations par semaine. Cependant, au cours de la seconde viendra s'ajouter une injection par voie intraveineuse de la substance anticholinergique à l'étude, simultanément à la mise en place de la perfusion de 2-DDG. Une seule séquence de doses d'anticholinergiques, proportionnelle aux paramètres d'affinité déterminés *in vitro*, sera employée selon cette technique.

L'activité antisécrétoire sera exprimée par le pourcentage d'inhibition du débit sécrétoire moyen, pour des périodes de différentes durées, après l'injection des produits. Une étude de l'intensité maximale et de la durée d'action de chaque substance sera ainsi possible.

II.C.3-2 — Etalonnage de la technique.

Les débits sécrétoires moyens des chiens FD₃ et FD₄, consécutifs à la perfusion en quatre heures de 2-DDG aux doses de 100 mg/kg, 133 mg/kg et 200 mg/kg, sont rassemblés sur les tableaux 15 et 16.

TABLEAU 15

Variations du débit gastrique acide (acidité totale) chez le chien FD₃, en réponse à une perfusion lente I.V. de différentes doses de 2-DDG ().*

N° des échantillons (15 mn)	Doses de 2-DDG (mg/kg pour 4 heures)		
	100 (**)	133 (**)	200 (**)
	M ± E.S. (§)	M ± E.S.	M ± E.S.
1	0	0,85 ± 0,327	0,83 ± 0,31
2	0,31 ± 0,21	0,79 ± 0,412	0,66 ± 0,27
3	0,45 ± 0,35	1,07 ± 0,393	1,23 ± 0,25
4	0,64 ± 0,37	0,95 ± 0,397	1,12 ± 0,30
5	0,58 ± 0,36	1,65 ± 0,447	1,32 ± 0,39
6	0,61 ± 0,30	2,57 ± 1,02	2,47 ± 0,83
7	0,37 ± 0,34	3,90 ± 0,738	2,60 ± 0,89
8	0,39 ± 0,30	3,55 ± 0,708	2,32 ± 0,90
9	0,34 ± 0,29	3,70 ± 0,854	2,12 ± 0,81
10	0,35 ± 0,25	2,25 ± 0,352	1,45 ± 0,54
11	0,48 ± 0,21	2,37 ± 0,564	1,46 ± 0,61
12	0,47 ± 0,24	2,00 ± 0,617	1,87 ± 0,92
13	0,39 ± 0,24	1,97 ± 0,460	1,84 ± 0,45
14	0,51 ± 0,20	2,17 ± 0,926	1,84 ± 0,45
15	0,40 ± 0,20	2,10 ± 1,09	1,82 ± 0,52
16	0,50 ± 0,26	2,20 ± 0,680	2,20 ± 1,10
Débit total moyen (mEq/4 h)	6,79	34,13	27,15

(*) 2-DDG dissous dans une solution extemporanée 0,15 M de NaCl, perfusée à vitesse constante par voie intraveineuse, sous un volume de 60 ml/heure.

(**) Les doses de 100 et 200 mg/kg/4 heures ont été perfusées à trois reprises; la dose de 133 mg/kg/4 heures a fait l'objet de quatre essais.

(§) Débit acide moyen (mEq/15 mn) suivi de l'erreur standard.

TABLEAU 16

Variations du débit gastrique acide (acidité totale) chez le chien FD₁, en réponse à une perfusion lente I.V. de différentes doses de 2-DDG ().*

N° des échantillons (15 mn)	Doses de 2-DDG (mg/kg pour 4 heures)		
	100 (**)	133 (**)	200 (**)
	M ± E.S. (§)	M ± E.S.	M ± E.S.
1	0,35 ± 0,22	0,80 ± 0,273	0,39 ± 0,25
2	0,40 ± 0,24	0,65 ± 0,181	0,42 ± 0,25
3	0,42 ± 0,19	2,02 ± 0,949	2,47 ± 0,82
4	0,62 ± 0,40	1,67 ± 0,248	2,30 ± 0,90
5	0,75 ± 0,37	1,32 ± 0,370	2,74 ± 0,72
6	0,90 ± 0,42	2,85 ± 0,694	3,90 ± 0,85
7	1,12 ± 0,55	3,80 ± 0,813	4,45 ± 0,96
8	1,09 ± 0,45	4,1 ± 1,13	5,20 ± 1,10
9	0,85 ± 0,50	4,4 ± 1,41	3,85 ± 0,75
10	1,04 ± 0,39	5,6 ± 1,62	3,40 ± 0,82
11	1,10 ± 0,51	5,6 ± 1,93	3,52 ± 0,74
12	0,96 ± 0,44	5,5 ± 1,29	3,26 ± 0,70
13	0,83 ± 0,45	9,7 ± 1,80	3,10 ± 0,70
14	0,99 ± 0,42	5,65 ± 0,518	3,37 ± 0,79
15	1,20 ± 0,52	6,38 ± 0,314	2,89 ± 0,84
16	1,30 ± 0,58	7,3 ± 1,99	3,25 ± 0,72
Débit total moyen (mEq/4 h)	13,92	67,34	48,45

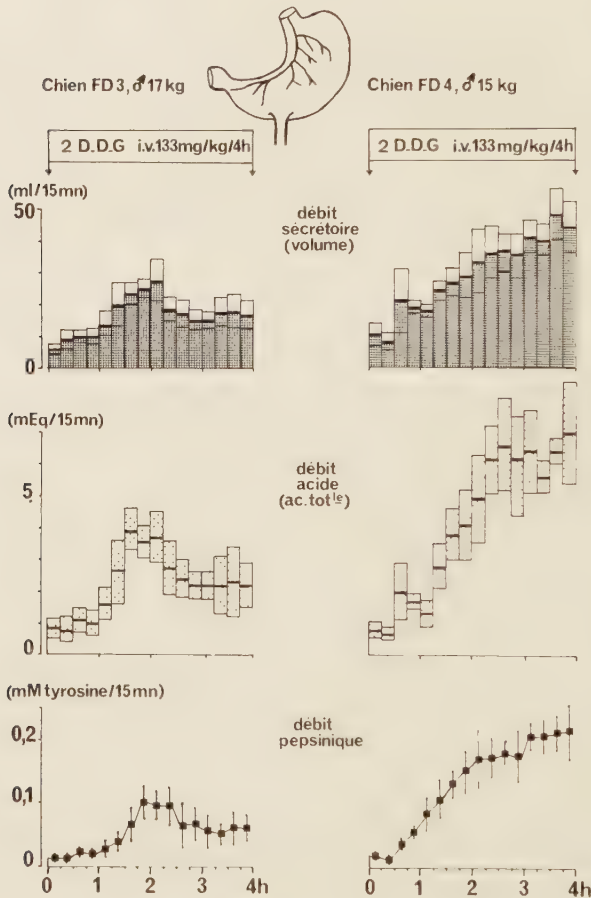
(*) 2-DDG dissous dans une solution extemporanée 0,15 M de NaCl, perfusée à vitesse constante par voie intraveineuse, sous un volume de 60 ml/heure.

(**) Les doses de 100 et 200 mg/kg/4 heures ont été perfusées à trois reprises; la dose de 133 mg/kg/4 heures a fait l'objet de quatre essais.

(§) Débit acide moyen (mEq/15 mn) suivi de l'erreur standard.

FIGURE 9

*Réponse sécrétoire des chiens FD₃ et FD₄
à une perfusion lente de 2-DDG par voie intraveineuse
(133 mg/kg en quatre heures)*



Les débits acides, pour la durée totale des recueils, passent dans les deux cas, par un maximum à la dose de 133 mg/kg administrée en quatre heures. Ensuite, lorsque l'on perfuse une dose de 200 mg/kg, le débit chute de façon assez sensible. D'un autre côté, il est curieux de constater que chez deux animaux de poids très voisins, le débit sécrétoire submaximal (ou maximal) en réponse au 2-DDG varie du simple au double.

D'après ces résultats, la dose de 133 mg/kg a été retenue pour la poursuite des expérimentations; les cinétiques des réponses enregistrées à cette dose apparaissent sur les courbes rassemblées sur la figure 9. Le plateau sécrétoire est atteint au bout de 90 à 135 minutes et se prolonge, tant en ce qui concerne les volumes que les débits

acides et pepsiniques, pendant les deux heures suivantes. Il faut enfin remarquer que les erreurs standards relatives à chaque moyenne ont une valeur importante, ce qui souligne l'ampleur des fluctuations des résultats expérimentaux.

II.C.₃₋₅ — Discussion de la technique choisie.

Les résultats des variations individuelles des débits sécrétoires acides pour les chiens FD₃ et FD₄, reportés sur la figure 9 peuvent difficilement être comparés à ceux qui ont été présentés par Mignon & al. (1971). En effet, ces auteurs travaillent dans des conditions similaires à celles que nous avons suivies mais ils évaluent l'acidité libre, laquelle n'a pas été dosée ici. En revanche, les débits pepsiniques sont tout à fait comparables. Les auteurs de la technique situent le palier de ce débit à 25 mg de tyrosine pour la dose de 2-DDG de 100 mg/kg (perfusée en trois heures); ce palier est atteint après deux heures de perfusion. A la même dose (soit 133 mg/kg de 2-DDG perfusé en quatre heures) nous observons un palier deux heures après la mise en route de la perfusion, de 0,1 et 0,2 mM de tyrosine. Le poids moléculaire de cet acide aminé étant de 181, il s'ensuit que 0,1 et 0,2 mM correspondent à des débits de 18,1 et 36,2 mg; cela revient à dire que nos résultats encadrent exactement le résultat moyen présenté par Mignon & al.

Un autre point de comparaison est fourni par les résultats de Hirschowitz & Sachs (1965), et de Eisenberg & al. (1966), lesquels injectent rapidement par voie intraveineuse le 2-DDG à la dose de 100 mg/kg. Les débits acides les plus élevés apparaissent en général au bout d'une heure; ils se situent respectivement à 9 mEq et 5 mEq par recueil de quinze minutes, mais la réponse sécrétoire disparaît en trois à quatre heures.

Ainsi, la perfusion d'une même dose de 2-DDG en trois heures ou la perfusion (équivalente) de 133 mg/kg en quatre heures provoque une stimulation dont le niveau maximal est inférieur à celui du pic sécrétoire consécutif à une injection unique, mais qui se maintient en plateau à partir de la deuxième heure. Ces résultats sont tout à fait conformes à ceux de Mignon & al. (1971).

II.D. — TECHNIQUE D'ETUDE DE L'INHIBITION DE LA REPONSE SECRETOIRE DE LA POCHE DE HEIDENHAIN CONSECUTIVE A UNE STIMULATION ANTRALE, PAR INTRODUCTION PREALABLE D'ANTICHOLINERGIQUES DANS LA POCHE ANTRALE.

Deux types de stimulation de la poche antrale éternuée ont été retenus :

- la stimulation par irrigation avec une solution à pH 9,2;
- la stimulation par irrigation avec une solution de glycine.

Dans les deux cas, les protocoles expérimentaux sont identiques,

et ils vont être exposés ci-après simultanément. Seront particulièrement développés les détails du montage opératoire réalisé, peu explicités par ailleurs, dans les publications scientifiques antérieures.

II.D.₁ — PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX.

II.D.₁₋₁ — Montage opératoire.

Les grandes lignes de la technique opératoire suivie ont été précisées par de Vito & Harkins (1959) pour ce qui concerne la poche de Heidenhain, puis par Thompson & al. (1964) et Rudick & al. (1967) pour le couplage d'une poche antrale à la poche fundique. Cependant, le protocole opératoire réalisé diverge notablement des publications de référence en de nombreux points (absence ou présence de canules, rétablissement de la continuité digestive, irrigation...) et il est donc indispensable d'en rappeler ici les détails techniques.

— La rate a toujours été extériorisée de la cavité péritonéale, selon de Vito & Harkins (1959). Elle est délicatement placée dans un champ stérile, humidifié à intervalles réguliers par du soluté de NaCl 0,154 M, et disposé sur le rebord gauche de l'ouverture. La légère traction qui est ainsi exercée sur le pédicule vasculaire splénique dégage la grande courbure et permet à l'estomac de descendre légèrement dans la cavité abdominale.

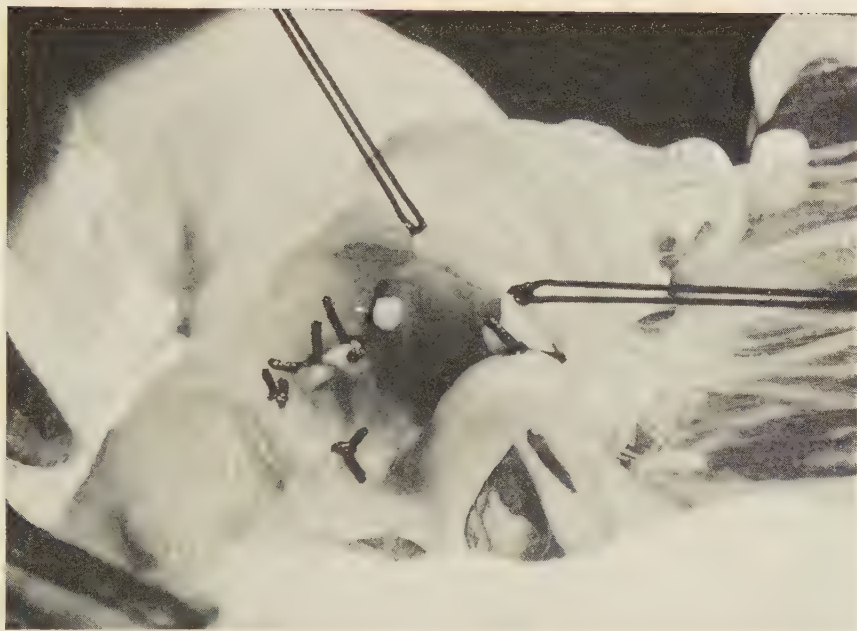
— Les caractéristiques externes décrites par Burrows & al. (1964), Mignon & Bonfils (1967) et Rudick & al. (1967) ont seules permis le repérage de la limite antro-fundique. La pâleur relative de la séreuse antrale, l'aspect granuleux des vaisseaux terminaux du fundus et les striations rouges caractéristiques qu'ils dessinent sous la séreuse ont donc guidé l'incision qui a isolé la zone antrale de la continuité digestive.

— Divers dégagements sont aménagés dans le lit vasculaire coronaire pour permettre le passage des clamps, assurer l'hémostase au niveau des sections ou supprimer radicalement l'innervation d'une zone par les fibres vagues constituant les plexus nerveux péri-artériels. Pour toute cette phase, les recommandations de M. Mignon (communications personnelles) ont été d'un grand secours.

Côté grande courbure, les limites prévues pour les futures poches, déterminent quelles sont les branches gastriques des vaisseaux gastro-épiplœiques droits et gauches, qui doivent être isolées entre deux ligatures (soie américaine n° 3 décimal) et sectionnées. Sont ainsi constitués des dégagements de 2 à 2,5 centimètres, dans l'épiplœon, entre les vaisseaux gastro-épiplœiques et la grande courbure, au niveau du pylore, de la jonction antro-fundique et au niveau de la jonction splénique des vaisseaux gastro-épiplœiques gauches (photographies n°s 1 et 2).

En revanche, il n'a jamais été pratiqué de section des branches épiplœiques de l'artère gastro-épiplœique droite; de même, sauf en cas de rupture accidentelle en cours d'intervention, on a toujours évité de ligaturer et sectionner la jonction des vaisseaux gastro-épiplœiques droit et gauche, à l'aplomb de la limite antro-fundique.

Photographie n° 1.



Préparation du passage des clamps de Doyen, côté grande courbure, dans le lit vasculaire coronaire, à la limite antro-fundique.

La section des vaisseaux situés entre la masse musculaire gastrique et l'artère (ou la veine) gastro-épiploïque se fait entre deux ligatures au fil de soie tressée. Les moignons vasculaires se distinguent de part et d'autre de la brèche ainsi créée (qui aura deux à trois centimètres de longueur) tandis qu'un ensemble artério-veineux ligaturé est prêt à être sectionné. Au premier plan, la veine et l'artère gastro-épiploïques droites forment une arcade, à l'aplomb de l'ouverture réalisée. A droite, l'épiploon richement vascularisé recouvre les anses intestinales; en bas, à gauche, la surface de l'antré, assez pâle et dont les vaisseaux ne présentent pas d'aspect granuleux, contrairement à ceux de la zone fundique.

Photographie n° 2.



Positions des brèches réalisées dans le lit vasculaire sur la grande courbure.

Les brèches supérieure et médiane, situées de part et d'autre du pédicule splénique, permettent le passage des clamps qui délimiteront la poche fundique. La brèche inférieure, à la jonction antro-fundique, livrera passage aux clamps qui rejoindront l'angle de la petite courbure pour déterminer la zone antrale à isoler. L'énorme masse de la rate apparaît sur toute la partie droite et inférieure de la photographie, tandis qu'un lobe hépatique et la vésicule biliaire se distinguent dans la cavité péritonéale

Du côté de la petite courbure, après avoir sectionné le ligament hépato-duodénal et repéré l'artère gastro-duodénale, il faut lier et sectionner l'artère gastrique droite qui est nettement moins profonde que la précédente. De la même façon, l'artère gastrique gauche est liée et sectionnée sur la partie ascendante de la petite courbure. Enfin, pour rechercher l'énervation la plus complète possible, les vaisseaux coronaires issus de l'artère gastrique sont liés et sectionnés un à un : ainsi se trouvent interrompues les afférences vagales constituant les réseaux périvasculaires de la petite courbure (photographie n° 3).

Photographie n° 3.



Ligature et section de toutes les ramifications vasculaires de la petite courbure.

Afin de supprimer le plus possible toute influence vagale au niveau antral, les vaisseaux de la petite courbure sont sectionnés un à un, entre deux ligatures. Un paquet vasculaire englobant l'artère et la veine gastriques gauches sera tout d'abord sectionné sur la partie ascendante de la petite courbure (le moignon vasculaire est visible dans la partie médiane supérieure de la photographie). La même opération est répétée, pour l'artère et la veine gastriques droites, dont les vestiges apparaissent sur la photographie, tout contre la vésicule biliaire. Enfin, toutes les afférences vasculaires sont ligaturées et sectionnées entre ces deux points (et les fibres vagales péri-vasculaires, du même coup).

— La section de la paroi gastrique réalisant une poche fundique énervée (ou poche de Heidenhain) intervient entre quatre clamps de Doyen. Cette poche a toujours été prise sur la partie la plus haute

possible de la zone fundique de telle sorte qu'une irrigation directe par le pédicule splénique reste, toutefois, possible; ainsi, l'estomac résiduel, amputé par ailleurs de l'antré, ne se trouve pas exagérément rétréci.

Puis l'on suture les tranches de la section, en commençant par le côté gastrique principal et en terminant par le côté de la poche isolée. Ces sutures se pratiquent en deux temps :

- une suture enfouissante au catgut chromé (n° 3 décimal) pour la muqueuse et la sous-muqueuse;

- un surjet simple, bien serré, à la soie tressée (n° 3 décimal) pour la musculo-séreuse, ce qui assure une hémostase correcte. Parfois, un ou deux points séparés supplémentaires sont nécessaires, au déclampage, pour parfaire l'obturation des gros vaisseaux.

Du côté de la poche (photographie n° 4), deux nouvelles sutures

Photographie n° 4.



Suture enfouissante des tissus muqueux et sous-muqueux de la paroi gastrique, au niveau de la poche de Heidenhain.

L'incision de la zone fundique, limitée par le clamp de Doyen, qui constituera une poche énérvée, est refermée en deux temps. Le premier temps consiste à enfouir les rebords des couches de la muqueuse et de la sous-muqueuse par une suture inversante, réalisée au catgut chromé serti sur aiguille courbe. On distingue nettement l'aspect plissé du côté interne de la muqueuse, les rebords de l'incision retournés vers la lumière de la poche ainsi que l'aspect tortueux des vaisseaux de la musculeuse qui sera suturée, en un second temps, par un surjet simple au fil de soie. La masse de la rate encombre toute la partie inférieure du cliché.

sont entreprises comme précédemment, mais elles sont laissées en attente à deux centimètres de l'extrémité de la section; l'ouverture maintenue est suffisante pour introduire la canule munie d'un embout tronconique perforant, qui franchit, par forci-pression la paroi de la poche dans sa région médiane. Les sutures en attente sont alors terminées; une dernière suture en bourse à la soie (n° 4 décimal) assure le bon enserrage des tissus autour de l'embase de la canule (photographie n° 5).

Photographie n° 5.



Poche de Heidenhain terminée.

La poche, toujours spasmée et rétrécie en fin d'intervention, n'est plus reliée que par un pédicule vasculaire à la rate. La canule a été implantée dans la partie médiane et sa fixation assurée par une suture en bourse, au fil de soie.

— Après avoir libéré, sur deux à trois centimètres, la jonction pyloro-duodénale de ses adhérences pancréatiques, une nouvelle section intervient à la base du bulbe entre deux clamps de Doyen. Les extrémités proximales et distales de cette interruption de la continuité digestive sont aussitôt obturées à la soie tressée (n° 3 décimal) en un seul plan, par une suture inversante.

— La section de la jonction antro-fundique suit la délimitation approximative repérée dès le début de l'intervention d'après les caractéristiques externes des deux zones. Dès que cette section est réalisée — toujours entre des clamps de Doyen — la poche antrale isolée, qui n'est plus reliée à l'organisme que par le réseau vasculaire de la grande courbure, se trouve enveloppée dans un champ stérile humide et légèrement déplacée vers la partie postérieure droite de la cavité péritonéale. Ce dégagement permettra un meilleur abord de l'anse jéjunale choisie pour réaliser la bouche d'anastomose. En effet, contrairement à Thompson & al. (1964) et après quelques essais peu concluants, la gastroduodénostomie a été abandonnée au profit d'une gastrojéjunostomie rétrocolique telle que la préconisent Emas & al. (1969) ou Pederson & Brown (1972).

— Auparavant, sont réalisées les sutures de la tranche gastrique (photographie n° 6) puis celles de la paroi de la poche antrale (photographie n° 7), toujours en deux plans, comme pour la poche de

Photographie n° 6.



Suture de la tranche gastrique, après section de la jonction antro-fundique.

La section gastrique est suturée en deux plans : une suture enfouissante au catgut chromé pour les couches de la muqueuse et de la sous-muqueuse, un surjet simple (en cours de réalisation sur le cliché), au fil de soie pour la musculo-séreuse.

La bouche d'anastomose, préparant la gastro-jéjunostomie, est conservée à l'angle constitué par la section et la grande courbure.

Au fond, à droite, la poche de Heidenhain est terminée.

Photographie n° 7.



Suture de la paroi antrale.

Les sutures, en deux plans, de la paroi de la poche antrale, sont particulièrement visibles sur ce cliché. La suture enfouissante de la muqueuse et sous-muqueuse est « en attente », réservant un passage à la canule qui sera introduite dès que la suture de la musculo-séreuse, en cours, atteindra le niveau du plan interne.

Photographie n° 8.



La poche antrale terminée.

La canule est en place, fixée par une suture en bourse. La poche reste correctement vascularisée par le réseau de la grande courbure où l'on distingue bien l'artère gastro-épiploïque droite et ses ramifications. En revanche, les moignons vasculaires de la petite courbure témoignent du soin apporté à l'énervation.

Heidenhain. Une canule est mise en place, par forci-pression, dans la région médiane peu vascularisée de la paroi antrale (photographie n° 8). La continuité du tractus digestif est alors rétablie par gastro-jéjunostomie (photographies n°s 9 et 10). L'ensemble des transformations réalisées à ce stade de l'opération se trouve schématisé sur la figure n° 10 et représenté par la photographie n° 11.

— Enfin, l'extériorisation des canules par passage en force à travers les parois cutanées et musculaires de l'abdomen termine le montage. Pour cela, une pointe effilée perce la paroi, de l'extérieur vers l'intérieur à l'aplomb des canules, et à cinq centimètres de la ligne médiane (il faut éviter de se situer trop près de la limite du gril costal car le frottement des bagues d'amarrage externe contre le rebord osseux crée une irritation nécrasante).

Photographie n° 9.



Rétablissement de la continuité du tractus digestif par gastro-jéjunostomie.

La tranche gastrique de la section antro-fundique et une anse jéjunale, chacune pincée entre les branches d'un clamp de Doyen, sont raccordées en deux temps. La face dorsale, profonde, de l'anastomose est tout d'abord réalisée en points séparés qui se lient dans la lumière gastrique (le cliché montre la fin de ce temps). Puis la face abdominale, superficielle est suturée, toujours en points en X séparés, qui se lient cette fois à l'extérieur de la lumière anastomotique.

Il faut remarquer que le point de suture prend toute la paroi jéjunale dont on aperçoit la muqueuse granuleuse et friable. Au contraire, du côté gastrique, l'aiguille s'insère entre la musculo-séreuse et l'ensemble de la muqueuse et sous-muqueuse, laissant libres ces dernières couches que la pince soulève légèrement. Elles viendront ensuite recouvrir la zone de suture qu'elles protégeront, et éviteront ainsi les fistulisations à ce niveau. La bouche d'anastomose gastrique, non visible, est indiquée par une flèche.

Photographie n° 10.



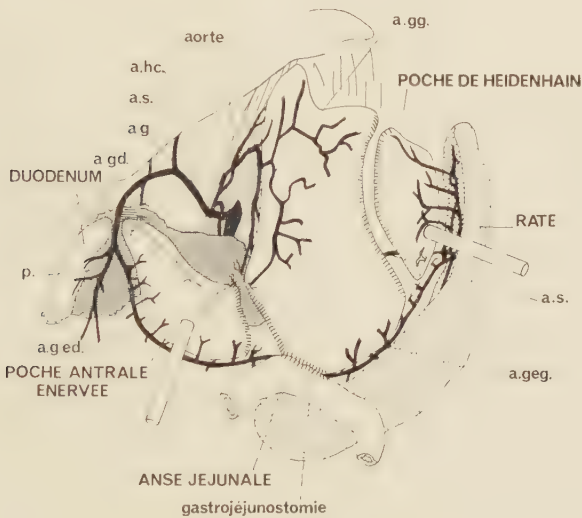
Gastro-jéjunostomie terminée.

Dans la partie supérieure la surface rouge, aux vaisseaux granuleux, de l'estomac résiduel, dont la masse est amputée de deux encoches : l'une, à gauche, correspond à la poche antrale, l'autre, à droite, à la poche de Heidenhain. L'anse jéjunale, à peine rétrécie par les sutures, est légèrement spasmée. A gauche la poche antrale présente une surface lisse caractéristique.

FIGURE 10

*Réalisation d'une poche de Heidenhain, d'une poche antrale énervée
et d'une gastro-jéjunostomie chez le Chien*

Limites anatomiques, irrigation et position des canules



Légende :

- a.g. : artère gastro-duodénale.*
- a.gd. : artère gastrique droite.*
- a.g. ed : artère gastro-épiploïque droite.*
- a.g.eg : artère gastro-épiploïque gauche.*
- a.gg. : artère gastrique gauche.*
- a.hc. : artère hépatique commune.*
- a.s. : artère splénique.*
- p. : pancréas.*

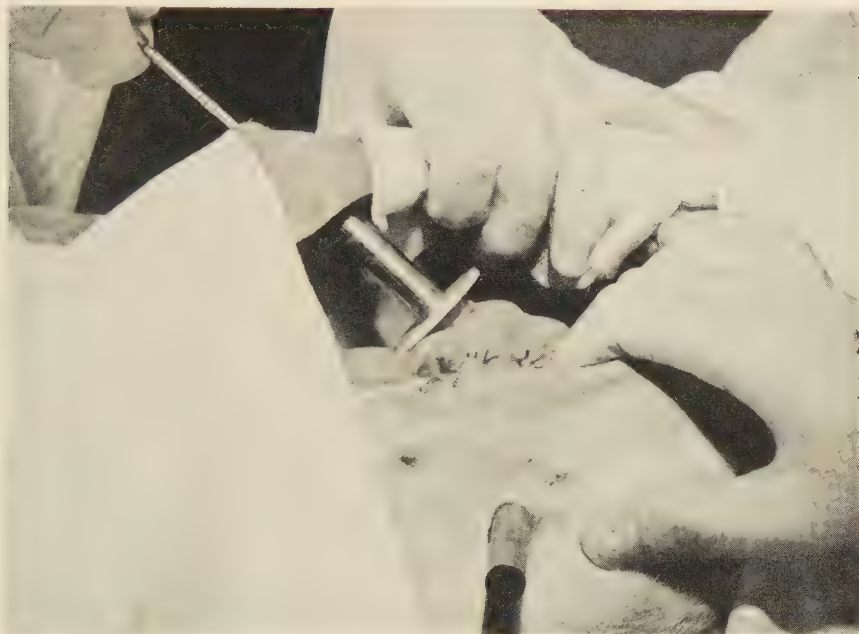
Photographie n° 11.



Ensemble des deux poches isolées et de la gastro-jéjunostomie.

En haut à droite, la poche de Heidenhain est posée sur la masse splénique qui se distingue à peine. Au centre, l'estomac résiduel et l'anse jéjunale forment une continuité fonctionnelle. En bas et à gauche la poche antrale, dont on ne discerne point l'irrigation. L'incision initiale, étirée par un écarteur de Gosset, libère un champ opératoire très suffisant.

Photographie n° 12.



Franchissement des canules, par forci-pression, à travers la paroi abdominale.

Une pointe d'acier effilée, enfoncée de l'extérieur vers l'intérieur, est allée se visser sur un raccord adapté à l'extrémité de la canule. Une bague en téflon vient buter sur l'épaule de l'embase de cette dernière, et limitera les tractions d'arrachage de l'ensemble. Il s'agit maintenant de tirer en force le corps de la canule vers l'extérieur. L'élasticité des tissus enserrera le tube d'acier et assurera l'hémostase; puis la préparation évoluera vers la formation d'un manchon conjonctif autour du tube de la canule.

Photographie n° 13.



Aspect de la paroi abdominale à la fin de l'intervention.

Les cantules sont enserrées dans deux bagues qui limitent leurs mouvements et empêchent leur pénétration accidentelle dans la cavité péritonéale. La peau est suturée au fil de soie, par des points en U. Un badigeon d'alcool iodé termine l'intervention.

Photographie n° 14.



Aspect des poches, plusieurs mois après l'opération.

Ce cliché, réalisé cinq mois après un montage opératoire, lors d'une autopsie, montre deux poches parfaitement individualisées, et dont le gonflement sous pression, par un liquide coloré, ne met en évidence aucune fistulisation. Seules, des anastomoses vasculaires se sont développées entre les deux zones.

La pointe effilée se visse alors sur le raccord tronconique adapté à la canule, et l'on tire l'ensemble vers l'extérieur (photographie n° 12). Une bague externe épaisse est fixée sur le corps de la canule et évite toute pénétration accidentelle de celle-ci dans la cavité (photographie n° 13). Il est arrivé qu'un animal perfore le fond de la poche en tombant sur un flanc lorsque la présence de cette bague externe semblait superflue. Les animaux ayant subi cette préparation sont identifiés par les lettres L ou AH.

II.D.2 — Etalonnage de la réponse sécrétoire de la poche fundique à une stimulation directe.

Cette partie du travail répond à une double préoccupation. Il faut, d'une part, vérifier que la poche est correctement énervée et qu'elle reste insensible à des influx vagues; d'autre part, il convient d'évaluer la capacité sécrétoire de la poche en utilisant un stimulus qui reste efficace malgré l'énervation.

Afin de s'assurer d'une parfaite énervation, Gregory (1958) préconise le râclage des vaisseaux du pédicule splénique, râclage qui peut, seul, interrompre la continuité des plexus nerveux périartériels. Cette précaution n'a pu être prise, car elle aurait exagérément prolongé le temps opératoire. De leur côté, Mignon & Bonfils (1967) estiment que, de toute façon, la sécrétion d'une poche de Heidenhain est nulle, habituellement, pendant la période interdigestive — ce qui a été confirmé chez tous les animaux que nous avons préparés —; ainsi, cette absence de sécrétion spontanée est une garantie de l'énervation *fonctionnelle* (sinon anatomique) du montage.

Par précaution, la réalité de l'énervation fonctionnelle a été vérifiée par l'épreuve au 2-DDG selon Limbosch (1972). Vingt ml d'une dissolution de 2-DDG dans une solution isotonique de NaCl sont injectés en quinze minutes par voie intraveineuse. La concentration de la solution est calculée de telle sorte que la quantité de 2-DDG administrée corresponde à une dose de 100 mg par kg. Tous les animaux ont subi ce test à deux reprises. Comme la certitude de l'énervation antrale n'était pas, à ce stade, confirmée, une perfusion simultanée d'une solution à pH 1,5 dans la poche antrale a évité toute interférence éventuelle d'un ricochet gastrinique consécutif à la stimulation au 2-DDG. Dans ces conditions, aucun animal n'a jamais répondu, dans les quatre heures qui ont suivi l'injection, par une sécrétion acide au niveau de la poche de Heidenhain; on peut donc considérer que l'énervation fonctionnelle du montage se trouve confirmée.

L'étalonnage de la capacité sécrétoire de la poche, en réponse à une substance pharmacologique active malgré l'interruption des influx vagues, a été fait avec la carbaminoylcholine, ou carbacholine, ou encore carbachol.

Le choix du stimulus s'est porté sur cette « acétylcholine retard » car elle sera utilisée par la suite comme révélateur et amplificateur de l'action de la gastrine endogène libérée. La potentialisation importante que les cholinomimétiques (et celui-ci en particulier) manifestent avec l'hormone antrale [Gregory & Tracy, 1958; Varro & al., 1971] constitue, en effet, l'un des procédés pharmacologiques de « visualisation » de l'effet de la gastrine libérée. Pour cela, chaque animal

a subi deux expérimentations identiques, au cours desquelles il a reçu une injection, par voie sous-cutanée, d'une solution de carbachol, et ceci toutes les quinze minutes pendant sept heures. La technique des « courbes cumulatives » a été adoptée, avec injection, à quatre reprises, de chacune des doses suivantes : 0,625 μg ; 1,25 μg ; 2,5 μg ; 5 μg ; 10 μg ; 20 μg et 40 μg , quel que soit le poids de l'animal.

Dans tous les cas, la dose la plus faible provoquant une réponse sécrétoire de la poche fundique s'est située à 1,25 μg . La dose optimale, première dose pour laquelle un plateau de sécrétion maximale s'est trouvé atteint, a varié de 10 μg à 20 μg selon les sujets.

En fonction des courbes doses-réponses enregistrées, une dose a été choisie pour chaque animal, de telle sorte qu'elle entraîne approximativement la même fraction de la réponse maximale pouvant être obtenue. Cette dose, retenue pour entretenir un plateau basal de sécrétion suffisamment stable (et cependant éloigné du plateau maximal), est précisée par le tableau 16.

TABLEAU 16

Doses de carbachol retenues pour la stimulation basale de la poche de Heidenhain de chaque animal.

N° du chien	Doses ($\mu\text{g}/15 \text{ mn S.C.}$)
AH ₁	4
AH _{2a}	4
AH _{2b}	2,5
AH ₃	2,5
AH ₅	2,5
AH ₁₀	4
L	5

A titre d'exemple, les moyennes des paramètres sécrétoires mesurés lors des deux expérimentations réalisées avec les animaux AH₁, AH_{2a} et L sont représentées par les figures 11, 12 et 13. Il faut y remarquer que, dans tous les cas, la dose de 1,25 $\mu\text{g}/15 \text{ mn}$ de carbachol a bien constitué la dose liminaire de réponse de la poche fundique. De même, dans ces trois exemples, le débit sécrétoire maximal est atteint pour la dose de 20 $\mu\text{g}/15 \text{ mn}$; le niveau des débits volumiques ou acides se maintient alors en plateau lorsque l'on administre une dose de cholinomimétique double; en revanche, la sécrétion pepsinique réalise un pic dans les quinze minutes qui suivent l'injection de la dose optimale puis décroît plus ou moins rapidement, quelles que soient les administrations éventuelles de stimulant qui suivront.

FIGURE 11

Détermination, chez le Chien à poches fundique et antrale énervées, de la capacité de réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain à une stimulation par des doses croissantes de carbachol

- Exemples des résultats enregistrés avec les chiens AH₁, AH_{2a} et L.
- Administration du carbachol toutes les quinze minutes par voie sous-cutanée.
- Deux expérimentations par animal.

a) Débit sécrétoire volumique, exprimé en millilitres de suc gastrique sécrété par fractions de quinze minutes.

b) Débit sécrétoire acide (acidité totale), exprimé en milli-équivalents d'ions H⁺ éliminés par fractions de quinze minutes.

c) Débit sécrétoire pepsinique exprimé en milli-moles de tyrosine, libérées, par minute, par hydrolyse d'un substrat de caséine.

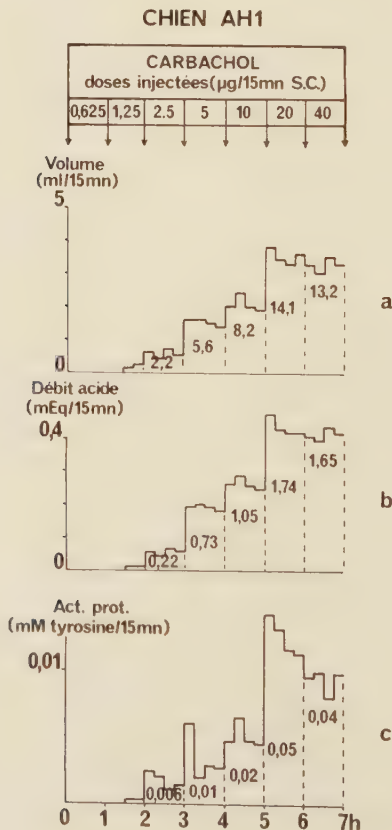


FIGURE 12

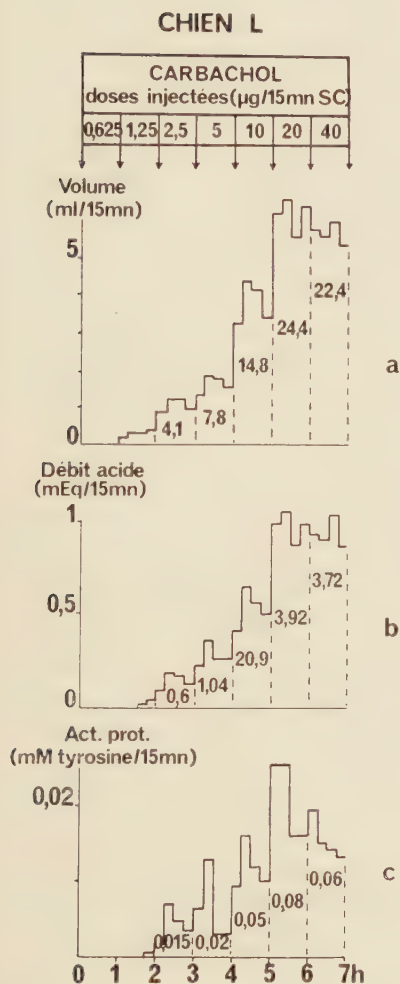
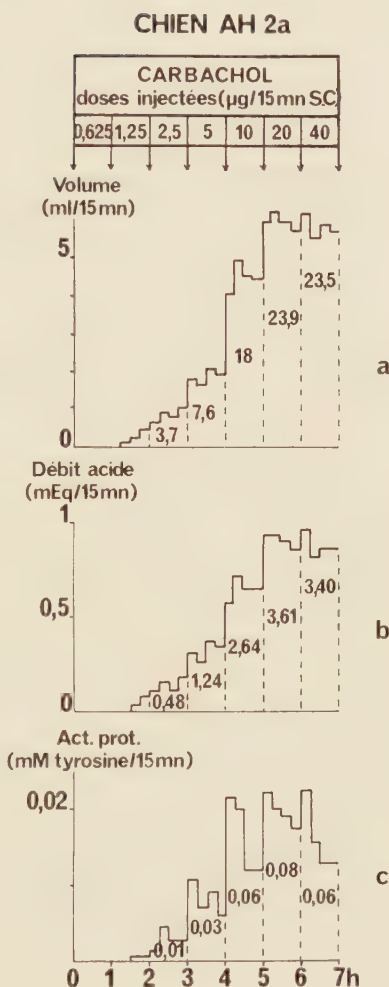


FIGURE 13



II.D.1-3 — Technique de stimulation de la poche antrale.

De la même façon que précédemment pour la poche fundique, l'efficacité de l'énervation de la poche antrale a été vérifiée.

A priori, et ainsi que le soulignent Rudick & al. (1967), il est logique de penser que la section méticuleuse des vaisseaux de la petite courbure, jointe à la section de la paroi gastrique dans toute sa largeur, assure une bonne énervation. Dans le montage expérimental effectué ici, le ligament hépato-duodéno-pylorique a également été sectionné, et ainsi ne devraient, éventuellement, persister que quelques fibres suivant le trajet des artères gastro-épiplœiques droites

et gauches. Ceci paraît insuffisant pour qu'une stimulation vagale exerce quelque action au niveau de l'antrum. Néanmoins, la vérification expérimentale de l'efficacité *fonctionnelle* de l'énervation réalisée a été entreprise.

Pour cela, une stimulation histaminique subliminaire (perfusion par voie intraveineuse à la dose de 5 µg par minute) a constitué le potentialisateur d'une éventuelle libération de gastrine. Au bout d'une heure, cette libération a été recherchée par stimulation vagale, provoquée par une injection lente de 2-DDG, par voie intraveineuse, à la dose de 100 mg/kg. Chez aucun des sept animaux du groupe expérimental n'est apparue de réponse sécrétoire au niveau de la poche de Heidenhain dans les trois heures qui ont suivi. Ainsi, il a été confirmé que l'énervation de la préparation était, au moins, fonctionnelle.

Le plan expérimental choisi pour susciter la libération de gastrine à la suite de l'introduction de diverses substances dans la poche antrale, et pour observer la réponse sécrétoire de la poche fundique, n'a été établi qu'après avoir pris en considération plusieurs éléments :

— A partir d'une poche antrale énervée, la libération de gastrine est plus faible qu'à partir d'une poche antrale qui a conservé son innervation.

— L'efficacité de la gastrine sur les cellules principales et bordantes du fundus se trouve très réduite lorsque la zone fundique considérée est énervée (suppression de la potentialisation par l'acétylcholine endogène au niveau des terminaisons vagues).

— Si l'on utilise un cholinomimétique pour jouer le rôle de « révélateur » de la présence de gastrine au niveau fundique — par le jeu de la potentialisation vraie (Andersson, 1966) qui rendra visible et mesurable un phénomène sécrétoire, lequel aurait les plus grandes chances, sinon, de rester extrêmement discret — il faudra attendre qu'un plateau de sécrétion soit atteint, avant de provoquer une hyper-sécrétion par libération de gastrine antrale.

— Il faudra enfin prévoir qu'une recherche du blocage de la libération de gastrine par un anticholinergique introduit, ultérieurement, dans la poche antrale, prolongera le délai à observer préalablement à la stimulation de la libération de l'hormone.

Compte tenu de tous ces impératifs, et après plusieurs essais et tâtonnements, le plan suivant a été définitivement adopté (voir tableau 17).

La stimulation, par irrigation, de la poche antrale a donc été réalisée avec deux solutions différentes :

— d'une part, le groupe de chiens A, comprenant les animaux numérotés AH_{2a}, AH_{2b}, AH₃ et AH₁₀ a reçu une perfusion, en goutte à goutte (20 g par minute), dans la poche antrale, d'une solution de glycine à 3 p. 100 dans du soluté isotonique de NaCl;

— d'autre part, le groupe de chiens B, réunissant les animaux numérotés AH₁, AH_{2a}, AH₅ et L, a subi la perfusion d'une solution tampon à pH 9,2, dont la constitution a été donnée précédemment (voir généralités sur les techniques).

Les modalités techniques de cette irrigation antrale sont précisées

TABLEAU 17

Plan expérimental adopté pour l'étude de la réponse sécrétoire, chez le Chien, d'une poche de Heidenhain, à la stimulation de la zone antrale isolée et énnervée.

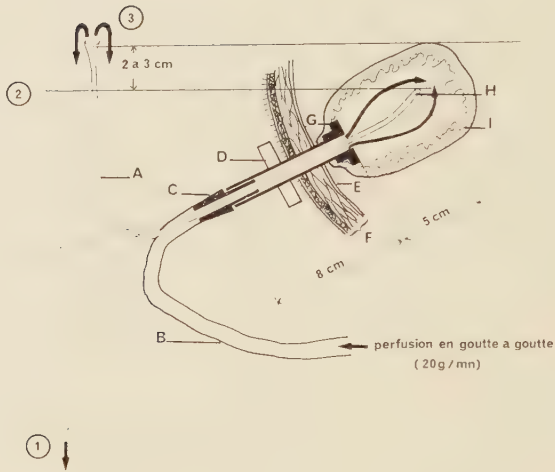
Horaire	N° des recueils (15 mn) au niveau de la poche de Heidenhain	Stimulation de base de la sécrétion	Irrigation de la poche antrale
0	1		Néant.
	2		
	3		
1 h	4		
	5		
	6		
	7		
2 h	8	Injections sous-cutanées de carbachol (0,25 µg à 0,50 µg par kg) répétées toutes les quinze minutes.	Perfusion d'un soluté de NaCl 0,154 M, en goutte à goutte.
	9		
	10		
	11		
3 h	12		Perfusion d'une solution de glycine ou d'une solution tampon à pH 9,2, en goutte à goutte.
	13		
	14		
	15		
4 h	16		Néant.
	17		
	18		
	19		
5 h	20		

par la figure 14. Il faut noter qu'après remplissage de la poche jusqu'au niveau de l'extrémité interne du tubule d'écoulement, le débouché externe de ce même tubule est relevé de deux à trois centimètres, ce qui assure un remplissage total de la poche; il est même probable qu'une légère surpression se produit, ce qui entraîne une très faible distension des parois de la poche. Ce procédé de perfusion a été inspiré de la technique utilisée par Emas & al. (1969).

FIGURE 14

Irrigation de la poche antrale

Détails techniques



A : cathéter efférent en matière plastique semi-rigide (sondes vésicales. réf. 8.16 — Plastique Delamotte).

B : cathéter afférent prélevé sur un ensemble à perfusion (« trousse Plastique Universelle », Meram, Melun).

C : cône de raccordement en téflon.

D : rondelle de fixation externe.

E : rondelle - butée interne en nylon.

F : paroi abdominale.

G : embase de la canule en nylon.

H : orifice du cathéter efférent.

I : paroi de la poche antrale.

1 : position de départ, maintenue jusqu'à l'apparition d'un écoulement du perfusat.

2 : relèvement progressif du niveau du tube A jusqu'à l'arrêt de l'écoulement du perfusat.

3 : rehaussement du niveau du tube A de deux à trois centimètres, à partir de la position 2, et maintien définitif dans cette situation.

II.D.₂ — ETALONNAGE DE LA RÉPONSE SÉCRÉTOIRE DE LA POCHE DE HEIDENHAIN A LA STIMULATION TOPIQUE DE LA ZONE ANTRALE ISOLÉE.

Comme cela apparaît sur les figures 15 et 16, les administrations

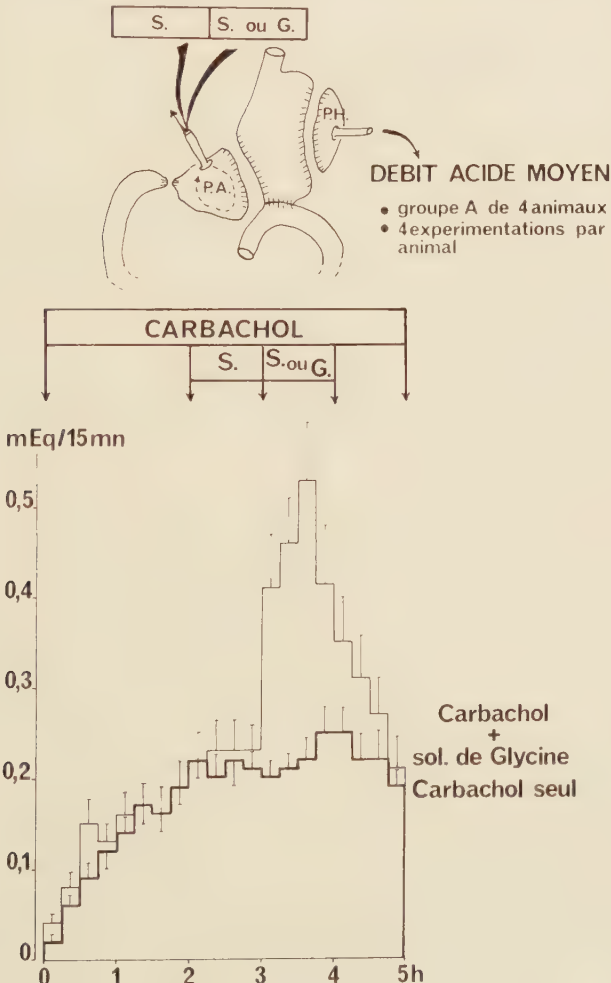
FIGURE 15

Variation du débit acide moyen de la poche de Heidenhain pour les animaux du groupe A, après entretien d'une sécrétion de base par des injections de carbachol et irrigation éventuelle de la poche antrale éternuée par une solution de glycine

— La stimulation de base est maintenue par des injections sous-cutanées de carbachol à des doses variant de 0,25 à 0,50 $\mu\text{g/kg}$ selon les animaux, répétées toutes les quinze minutes.

— Trait fort : évolution du débit sécrétoire moyen (mEq/15 mn) pour un groupe (A) de quatre individus, lors de stimulations par le carbachol seul (quatre expérimentations par animal).

— Trait fin : débits moyens enregistrés lors d'expérimentations au cours desquelles se surajoute à la stimulation de base une perfusion de glycine à 3 p. 100 dans la poche antrale, de la troisième à la quatrième heure (quatre expérimentations par animal).



Légende :

S : solution de NaCl 0,154 M.

G : solution de glycine à 3 p. 100 dans une solution 0,154 M de NaCl.

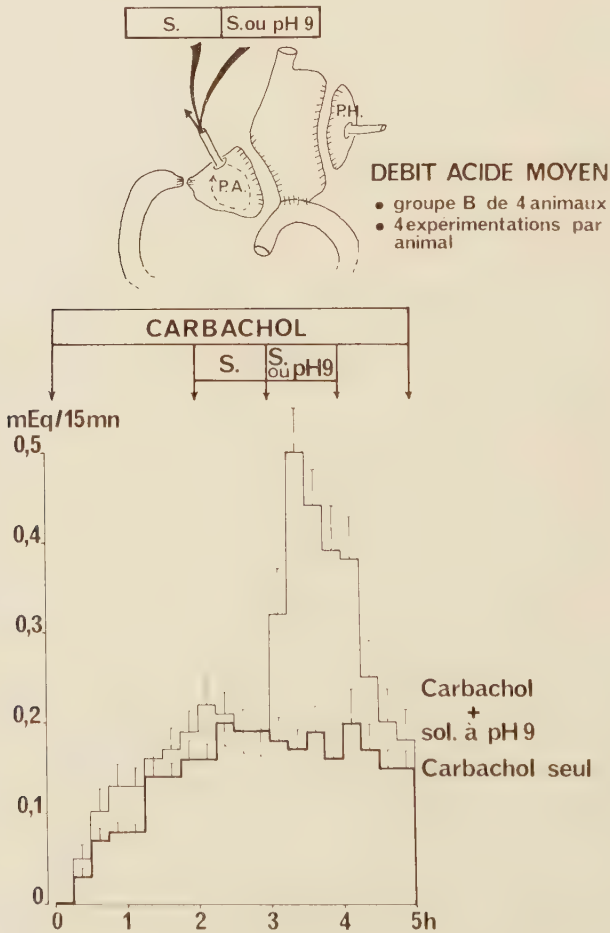
FIGURE 16

Variations du débit acide moyen de la poche de Heidenhain pour les animaux du groupe B, après entretien d'une sécrétion de base par des injections de carbachol et irrigation éventuelle de la poche antrale éternée par une solution tampon à pH 9,2

— Stimulation de base : carbachol injecté par voie sous-cutanée, toutes les quinze minutes, à des doses variant de 0,25 à 0,50 $\mu\text{g/kg}$ selon les animaux.

— Trait fort : évolution du débit sécrétoire moyen pour un groupe (B) de quatre individus, lors de la stimulation par le carbachol seul (quatre expérimentations par animal).

— Trait fin : évolution du débit sécrétoire moyen lorsque se trouve surajoutée une perfusion (dans la poche antrale) d'une solution à pH 9,2 de la troisième à la quatrième heure après le début de l'expérimentation (quatre expérimentations par animal).



Légende :

S : solution de NaCl 0,154 M.

pH 9 : solution tampon à pH 9,2.

de carbachol par voie sous-cutanée, répétées toutes les quinze minutes — à des doses variant de 2,5 à 5 μ g par animal, soit de 0,25 à 0,50 μ g/kg — ont entraîné une réponse sécrétoire qui a atteint un plateau stable 90 à 135 minutes après la première injection. Le débit sécrétoire s'est maintenu ensuite, pendant les trois heures qui ont suivi, à un niveau régulier, oscillant autour de 0,20 mEq d'ions H^+ par quinze minutes pour les animaux du groupe A, et se situant entre 0,15 et 0,20 mEq pour les animaux du groupe B. Il n'a pas été observé de très importantes variations entre les animaux, à l'intérieur d'un même groupe.

La perfusion d'une solution de glycine, de la troisième à la quatrième heure de l'expérimentation, dans la poche antrale, a très rapidement élevé le débit acide de la poche fundique. Celui-ci a atteint, en moyenne, une valeur maximale au troisième recueil fractionné qui a suivi le début de la perfusion, c'est-à-dire de la 30^e à la 45^e minute de perfusion. Le niveau maximal du débit a légèrement dépassé, en moyenne, 0,50 mEq d'ions H^+ par quinze minutes, ce qui correspond à un pic sécrétoire supérieur de plus du double au niveau de la sécrétion de base. La chute du débit, amorcée dès la 45^e minute de sécrétion malgré la poursuite de la perfusion antrale, s'est accentuée dès la cessation de celle-ci pour revenir au niveau de la sécrétion de base, entretenue par le carbachol seul, 30 à 45 minutes après la fin de l'irrigation de la poche antrale. La figure 15 représente la cinétique de la réponse moyenne obtenue avec le groupe d'animaux A.

La perfusion d'une solution tampon à pH 9,2 dans la poche antrale a entraîné à peu près le même type de réponse que la perfusion de glycine : la montée de la courbe de débit acide de la poche de Heidenhain a peut-être été un peu plus rapide, mais le niveau du pic maximal atteint (0,50 mEq/15 mn) est strictement comparable à celui enregistré précédemment avec la solution d'acide aminé. La figure 16 représente l'évolution du débit acide moyen, dans ces conditions expérimentales, pour les animaux du groupe B.

II.D.₃ — DISCUSSION DE LA TECHNIQUE.

Diverses critiques peuvent être formulées à l'adresse de chacun des temps de l'expérimentation.

Ainsi, par exemple, le temps opératoire ne satisfait pas pleinement le spécialiste de la réalisation des poches antrales, habitué à isoler parfaitement toute la zone des cellules à gastrine, et uniquement celle-ci. Ici, nous n'avons jamais pris la précaution d'une délimitation précise de la jonction antro-fundique, et il faut bien avouer que cela ne semble pas justifié, en regard du but poursuivi. En effet, s'il reste quelques cellules à gastrine dans la paroi de l'estomac résiduel, cela ne gênera en rien la réponse sécrétoire de la poche fundique à la stimulation antrale. D'un autre côté, si quelques glandes à sécrétion chlorhydro-peptique se sont trouvées incluses dans la paroi de la poche antrale, cela n'a jamais retenti sur le pH des solutions perfusées dans la poche et toutes les vérifications effectuées en ce sens ont montré l'absence d'acidification perturbatrice des solutions perfusées.

Le fait de procéder à l'isolement des deux poches au cours de la même intervention prolonge, évidemment, la durée de l'anesthésie.

Il est certain qu'une opération en deux temps, à deux ou trois semaines d'intervalle, telle que la pratiquent Elwin (1969) et Pederson & Brown (1972) paraît moins traumatisante. Toutefois, nous avons fait quelques essais selon ce protocole et avons abandonné très vite à cause des nombreuses adhérences qui se développent à la suite de la première intervention et gênent considérablement le second montage.

La survie des animaux, huit jours après l'opération, n'a été que de 40 p. 100 environ; elle est restée à 30 p. 100 trois mois plus tard.

La stimulation de la poche antrale peut également être critiquée, car elle est probablement mixte: il y a, bien sûr, une stimulation consécutive à la perfusion de la solution, mais il faut penser également à une stimulation directe des cellules à gastrine par le carbachol injecté. Cependant, il n'a pas été possible d'envisager une suppression totale de cette potentialisation par le cholinomimétique, au niveau de la poche de Heidenhain. La potentialisation par l'histamine ou la pentagastrine a bien été envisagée, mais elle semblait plus éloignée de la réalité physiologique. Enfin, la distension de la poche antrale, même limitée, a probablement contribué à la libération de gastrine.

Le stimulant le plus efficace, l'acétylcholine, n'a pas été utilisé. Là encore, une solution d'acide aminé ou une solution alcaline (même si elle paraît très alcaline) restent tout de même plus « physiologiques » qu'une solution d'acétylcholine.

Une troisième critique concerne la séquence expérimentale choisie: la perfusion de l'anticholinergique dans la poche antrale, pendant l'heure qui précède la perfusion de la solution stimulant la libération de gastrine, ne correspond pas tout à fait aux situations créées par ailleurs. Dans ce cas, *l'occupation d'éventuels récepteurs cholinergiques pendant une période aussi longue, avant la présence de l'agoniste, confère à l'expérimentation le caractère d'une recherche d'activité « préventive » dont on ne retrouve pas l'équivalent dans d'autres situations expérimentales.* Il n'a pas semblé souhaitable, toutefois, d'introduire les substances anticholinergiques simultanément à la perfusion car il aurait fallu alors discuter l'éventuelle interaction chimique de plusieurs substances mélangées dans la même solution.

Comparons les résultats enregistrés ici à la suite de la stimulation de la sécrétion par le carbachol, aux résultats obtenus par différents auteurs. Si l'on reprend l'exemple des chiens AH₁, AH_{2a} et L, on peut noter que le débit acide maximal de la poche de Heidenhain oscille entre 0,4 et 1 mEq/15 mn (figures 11, 12 et 13). Le plateau sécrétoire se trouve atteint dès la dose de 20 µg/15 mn. Andersson & Grossman (1965), qui notent le développement d'une hypersensibilité des cellules pariétales à la stimulation cholinergique, après l'énervation pré-ganglionnaire, enregistrent un débit de la poche de Heidenhain de 0,75 mEq/15 mn lors d'une stimulation par le bétanécot. Si Nakajima & al. (1969) obtiennent un débit nettement supérieur après injection de métacholine (jusqu'à 1,8 mEq par fraction de dix minutes pour une dose de 2 µg/mn I.V.), Brooks & al. (1971) arrivent à des résultats tout à fait comparables à ceux qui viennent d'être rappelés ci-dessus, après perfusion, par voie intraveineuse, de bétanécot aux doses de 0,025 mg/kg/h et de 0,1 mg/kg/h; les débits sont alors de 0,4 mEq/15 mn et 1 mEq/15 mn respectivement. Les débits des

poches de Heidenhain des chiens sur lesquels repose cette expérimentation, après stimulation par un cholinomimétique, sont donc conformes aux observations faites précédemment.

La réponse sécrétoire à la perfusion de glycine dans la poche antrale a été étudiée par Emas & al. (1969), qui voient le débit acide de la poche de Heidenhain s'abaisser de 0,185 mEq/15 mn à 0,04 mEq/15 mn après l'énervation antrale. Cependant, ces auteurs ne travaillent pas sur un plateau sécrétoire entretenu par les injections répétées d'un cholinomimétique. Finalement, les résultats de la figure 15 sont plus proches de ceux qui font suite aux travaux de Longhi & al. (1957), Shapira & State (1961), Schofield (1966) ou Mignon & al. (1966) qui utilisent tous, cependant, un extrait ou un broyat de foie de veau comme stimulant. Le débit acide ainsi provoqué au niveau de la poche fundique varie de 0,2 à 1 mEq/15 mn, ce qui correspond à nos résultats.

Il n'a pas été relevé de publications précisant l'effet de l'irrigation de la zone antrale par une seule solution alcaline. La distension, composante non négligeable de notre montage expérimental, entraîne une réponse qui est du même ordre que la réponse consécutive à l'utilisation d'un stimulus chimique : Longhi & al. (1957) enregistrent une réponse qui oscille entre 0,5 et 0,6 mEq/15 mn.

II.E. — TECHNIQUES D'ETUDE DE LA SECRETION GASTRIQUE DU RAT EXCLUANT L'UTILISATION D'UN STIMULANT PHARMACOLOGIQUE.

II.E.₁ — DÉTERMINATION DE L'INHIBITION DE LA SÉCRÉTION GASTRIQUE CONSÉCUTIVE A L'ADMINISTRATION D'UN ANTICHOLINERGIQUE CHEZ LE RAT A PYLORE LIÉ.

II.E.₁₋₁ — Protocole expérimental.

Le protocole expérimental qui suit respecte les principales indications de Shay & al. (1945 et 1954). Lors de chaque série expérimentale, quarante rats Sprague-Dawley mâles, pesant 180 ± 20 grammes, sont répartis selon les lois du hasard en lots de dix animaux et soumis à une diète de soixante heures. Pendant cette période, ils sont isolés dans des cages individuelles grillagées (prévention de la coprophagie) et ne reçoivent qu'une administration quotidienne d'un mélange, à parties égales, d'un soluté NaCl 0,154 M et d'une solution glucosée à 50 p. 1000; cette administration intragastrique se réalise par le moyen d'une sonde œsophagienne, à la dose de 25 ml par kg.

A l'issue de ce jeûne, une laparotomie médiane est pratiquée sous narcose à l'éther. La vacuité gastrique est vérifiée par légère palpation de l'estomac : certains sujets, non parfaitement à jeun, sont écartés de la phase expérimentale suivante. La ligature du pylore, qui res-

pecte l'ensemble vasculaire, intervient alors, puis la paroi abdominale est refermée en deux plans, à la soie. Cette opération est toujours effectuée au même moment de la matinée, entre 9 h 30 et 11 h.

Dès la fin de l'intervention, les produits à étudier sont administrés par voie sous-cutanée, en solution aqueuse, sous un volume de un ml. Les animaux du groupe de contrôle ne reçoivent qu'une injection d'un ml d'eau distillée. Les doses injectées demeurent proportionnelles aux constantes d'affinité pour les récepteurs cholinergiques, déterminées *in vitro*.

Tous les sujets sont replacés dans leur cage dont ils seront extraits, quatre heures plus tard, pour être sacrifiés par inhalation de chloroforme. Cette phase se déroule dans le même ordre chronologique et au même rythme que lors du temps opératoire. Après ouverture de la plaie, le cardia est ligaturé; l'œsophage, le duodénum et les attaches vasculaires sont sectionnés; l'estomac se trouve prélevé, puis vidé de son contenu.

Après que le volume des sécrétions gastriques de chaque animal ait été mesuré, les acidités libre et totale sont titrées, les débits acides calculés. En outre, une évaluation rapide du pH est réalisée par l'utilisation d'un papier pH-sensible.

Pour chaque paramètre, les moyennes relatives aux différents groupes d'animaux « traités » sont comparées à celles du groupe de contrôle correspondant. Dans le cas où ces moyennes sont significativement différentes, l'inhibition de la fonction sécrétoire se trouve exprimée par le pourcentage de diminution relativement au groupe de contrôle.

II.E.1-2 — Etalonnage de la technique.

Dans un premier temps, les sécrétions de cinq lots de contrôle numérotés de 1 S à 5 S, réalisés au cours de cinq journées successives et comportant sept à dix animaux (tableau 18) ont été recueillies, dosées et comparées. Cette étude préalable doit permettre d'apprécier les débits sécrétoires en fonction des données de la bibliographie; elle doit également indiquer si une comparaison directe des valeurs absolues des débits sécrétoires recueillis chez des lots ayant reçu une administration d'anticholinergiques lors de différentes expérimentations sera légitime. Il faut, pour cela, que les groupes de contrôle présentent entre eux de très faibles variations, et qu'ils soient comparables deux à deux.

Le tableau 18 regroupe les résultats moyens enregistrés avec chacun des lots expérimentaux.

La disparité des valeurs moyennes calculées est le trait le plus frappant qui ressort de l'observation de ce tableau. La plupart des paramètres varient du simple au double selon les groupes d'animaux. La comparaison globale des résultats et l'évaluation statistique de la comparabilité des moyennes, dans leur ensemble, telles qu'elles sont reportées sur le tableau 19, font tout de même apparaître que celles-ci ne sont pas significativement différentes entre elles dans l'ensemble. Il est certain toutefois que l'on hésitera à comparer deux à deux

les résultats absolus obtenus à partir de deux expérimentations distinctes, étant donné les fluctuations spontanées qui apparaissent, d'un jour à l'autre, entre les débits sécrétoires moyens.

TABLEAU 18

*Variations de la sécrétion gastrique moyenne
chez différents lots de rats Sprague-Dawley (mâles, 180 g)
après ligature du pylore.*

— Technique de Shay (1954).

— Durée d'étude : 4 heures.

Caractéristiques du lot		Valeurs moyennes des différents paramètres ± erreur standard			
N°	Nombre d'animaux	Volume (ml)	pH	Débit acide (ac. libre) $\mu\text{Eq H}^+$	Débit acide (ac. total) $\mu\text{Eq H}^+$
1 S	10	$4,4 \pm 0,79$	$1,0 \pm 0,05$	$366 \pm 99,5$	572 ± 147
2 S	10	$4,0 \pm 0,55$	$1,6 \pm 0,12$	$292 \pm 64,7$	$415 \pm 82,1$
3 S	8	$5,4 \pm 0,41$	$1,5 \pm 0,19$	$376 \pm 41,5$	$711 \pm 70,5$
4 S	7	$7,1 \pm 0,60$	$1,5 \pm 0,19$	$780 \pm 13,4$	$900 \pm 25,3$
5 S	10	$4,9 \pm 0,43$	$2,0 \pm 0,47$	$203 \pm 53,9$	$505 \pm 52,9$

II.E.₁₋₈ — Critique de la technique.

La critique de la technique de Shay a été rappelée précédemment.

Pour ce qui concerne plus précisément les résultats de l'étalonnage, on peut affirmer qu'ils s'inscrivent bien, en général, dans les normes publiées antérieurement. Ainsi, par exemple, Vagne & al. (1973), après trois heures de ligature, recueillent 3,8 ml de sécrétions contenant 350 $\mu\text{Eq H}^+$, ce qui correspond aux valeurs figurant sur le tableau 18.

Une remarque importante découle de la grande variabilité des résultats selon le jour où est conduite l'expérimentation. Il s'agira en effet d'évaluer à chaque fois l'activité inhibitrice d'une substance en fonction du débit moyen du lot de contrôle réalisé le même jour, et non pas en comparaison d'une moyenne générale ou de la valeur absolue de la sécrétion recueillie lors d'une autre séquence expérimentale.

D'un autre côté, il faudra rester très prudent dans l'évaluation de l'activité inhibitrice, les fluctuations spontanées pouvant être interprétées comme des abaissements de niveau sécrétoire dus à l'administration du produit.

Une marge de sécurité d'au moins 30 p. 100 (pour qu'un pourcentage de diminution soit considéré comme significatif) ne paraît pas exagérée.

TABLEAU 19

Etude de la comparabilité des paramètres sécrétoires moyens chez différents lots de rats, après ligature pylorique.

Etude relative aux lots numérotés 1 S à 5 S.

Paramètres	Etude statistique de la comparabilité des différents lots	Conclusion (F de la table, à 5 p. 100 = 2,61)
Volume moyen (ml/4 h)	$F_{37}^4 = 2,14$	Moyennes non significativement différentes entre elles dans l'ensemble.
Débit acide moyen (μ Eq/4 h)	$F_{37}^4 = 2,487$	Moyennes non significativement différentes entre elles dans l'ensemble.

II.E.₂ — DÉTERMINATION DE L'INHIBITION DE LA SÉCRÉTION GASTRIQUE CONSÉCUTIVE A L'ADMINISTRATION D'UN ANTICHOLINERGIQUE CHEZ LE RAT CONTRAINT, PORTEUR D'UNE FISTULE TRANSDUODÉNO-PYLORIQUE.

II.E.₂₋₁ — Protocole expérimental.

La technique suivie fut décrite par Bonfils & al. (1958). Les détails opératoires complémentaires ne figurant pas dans la publication de référence sont dus à des communications personnelles de M. Dubrasquet.

Des rats Sprague-Dawley mâles, pesant 180 ± 20 g, sont placés en situation de jeûne total pendant 24 heures, avec eau ad libitum.

A l'issue de celui-ci, et après anesthésie à l'éther, une laparotomie médiane est pratiquée et le pylore dégagé. La ligature à placer sur la fistule se prépare strictement comme suit, afin d'éviter tout traumatisme des tissus ou des vaisseaux sanguins. Un passe-fil courbe est enfoncé dans la région épiploïque peu vascularisée, proche de la rate, à la zone de jonction des réseaux vasculaires gastro-épiploï-

ques droit et gauche. Après s'être glissée sous la partie antrale de l'estomac, la pointe du passe-fil fait émergence à travers l'épiploon, du côté de la petite courbure, au niveau de la bifurcation des vaisseaux gastro-épiploïques et pyloriques. Ainsi, la ligature au fil de lin ordinaire se pose en biais sur le sillon pylorique, en remontant sur la grande courbure et ceci afin d'obturer les canaux excréteurs du lobule pancréatique aberrant débouchant dans l'antrum pylorique.

Lorsque la ligature est préparée, une incision punctiforme sur la face duodénale antérieure, à huit millimètres du pylore, permet l'introduction de l'extrémité biseautée d'un cathéter en polyéthylène (BIOTROL n° 14), par un mouvement semi-rotatif, jusqu'au sphincter pylorique qu'elle franchit. La ligature est alors serrée de manière très modérée.

Les deux premières sutures qui refermeront la paroi abdominale sont très importantes car elles conditionnent le bon positionnement de la canule, et le parfait écoulement du suc gastrique. Un premier point de suture limite la plaie du côté du sternum; le cathéter est alors ramené le plus antérieurement possible et se trouve bloqué par une deuxième suture placée tout contre la canule. Le reste de la paroi est ensuite obturé normalement.

Un coussinet de coton, transpercé par le cathéter, isole l'animal de la grille de contrainte où il se trouve placé et évite des écoulements d'hémolymphe le long du tube en polyéthylène. Les pattes sont attachées ensemble deux par deux.

La sécrétion est recueillie pendant six heures, en trois fractions de deux heures. A la fin de l'expérimentation, les animaux sont sacrifiés et le contenu gastrique se trouve ajouté au recueil de la dernière fraction. Le calcul des volumes et débits acides moyens correspondant à chaque période de recueil, puis à la durée totale de l'expérimentation, est effectué.

Par la suite, plusieurs séries expérimentales seront nécessaires pour déterminer l'activité antisécrétoire des substances anticholinergiques. A chaque fois, l'implantation d'une fistule transduodéno-pylorique est réalisée sur 40 à 50 sujets qui sont répartis — selon les lois du hasard — en quatre groupes égaux. Le premier lot servira de contrôle et ne subira, à l'issue du temps opératoire, qu'une injection d'un ml d'eau distillée par voie sous-cutanée. Les trois autres lots recevront, dans les mêmes conditions, les trois anticholinergiques en solution dans le même volume d'eau, à des doses proportionnelles aux valeurs des paramètres d'affinité pour les récepteurs cholinergiques, déterminés précédemment *in vitro*.

Cinq séquences de doses (identiques aux séquences respectées lors du protocole précédent) seront ainsi expérimentées. Dans chaque cas, l'activité inhibitrice des substances, lorsqu'elle est statistiquement significative, est traduite par la diminution du volume moyen (ml/6 h) et du débit acide moyen (μ Eq/6 h) et exprimée en « pour cent » des moyennes relatives au lot de contrôle.

II.E.₂₋₂ — Etalonnage de la technique.

De la même façon que pour la technique de la ligature pylorique selon Shay, les sécrétions de cinq lots de contrôle, réalisés au cours

de cinq journées successives et numérotés 1B à 5B ont été comparées. Les débits volumiques et acides moyens sont reportés sur les tableaux 20 I et 20 II. Une très grande homogénéité des résultats apparaît à la lecture de ces tableaux et le calcul statistique montre que les moyennes ne sont pas différentes (tableau 21). Ainsi, les résultats obtenus lors de différentes séquences expérimentales pourront-ils être comparés à une même moyenne générale des lots de contrôle. Une comparaison directe des valeurs absolues des débits sécrétoires moyens, après administration des divers anticholinergiques, serait même réalisable.

TABLEAU 20

*Variations de la sécrétion gastrique moyenne
chez différents lots de rats Sprague-Dawley (mâles, 180 g)
après fistulisation transduodéno-pylorique.*

— Technique de Bonfils (1958).

— Durée d'étude : 6 heures.

I. Volumes moyens des sécrétions (ml) $\pm$ erreur standard.

Lot		Intervalle de temps considéré			
N°	Nombre d'ani- maux	0 - 2 h	2 h - 4 h	4 h - 6 h	0 - 6 h
1 B	11	1,7 $\pm$ 0,27	0,8 $\pm$ 0,16	1,1 $\pm$ 0,20	3,6 $\pm$ 0,45
2 B	9	1,3 $\pm$ 0,31	1,2 $\pm$ 0,19	1,3 $\pm$ 0,13	3,8 $\pm$ 0,50
3 B	10	1,5 $\pm$ 0,23	0,9 $\pm$ 0,19	1,2 $\pm$ 0,10	3,6 $\pm$ 0,33
4 B	9	1,5 $\pm$ 0,39	1,0 $\pm$ 0,26	1,4 $\pm$ 0,21	3,9 $\pm$ 0,52
5 B	9	1,9 $\pm$ 0,50	0,8 $\pm$ 0,14	1,6 $\pm$ 0,18	4,3 $\pm$ 0,68

II. Débit acide moyen ($\mu\text{Eq}/\text{intervalle de temps considéré}$) $\pm$ erreur standard.

Lot		Intervalle de temps considéré			
N°	Nombre d'animaux	0 - 2 h	2 h - 4 h	4 h - 6 h	0 - 6 h
1 B	11	$296 \pm 33,1$	$143 \pm 28,8$	$122 \pm 22,2$	$562 \pm 61,6$
2 B	9	$272 \pm 60,3$	$151 \pm 18,7$	$148 \pm 17,7$	$571 \pm 76,6$
3 B	10	$232 \pm 27,1$	$188 \pm 26,2$	$158 \pm 27,1$	$547 \pm 52,1$
4 B	9	$264 \pm 45,0$	$159 \pm 28,3$	$134 \pm 33,3$	$558 \pm 58,7$
5 B	9	$233 \pm 40,4$	$112 \pm 23,5$	$251 \pm 45,7$	$596 \pm 80,6$

TABLEAU 21

Etude de la comparabilité des paramètres sécrétoires moyens chez différents lots de rats porteurs d'une fistulisation transduodéno-pylorique.

Etude relative aux lots numérotés 1 B à 5 B.

Paramètres	Etude statistique de la comparabilité des différents lots	Conclusion (F de la table, à 5 p. 100 = 2,61)
Volume moyen (ml/6 h)	$F_{43}^4 = 0,318$	Moyennes non significativement différentes entre elles dans l'ensemble.
Débit acide moyen ($\mu\text{Eq}/6 \text{ h}$)	$F_{43}^4 = 0,095$	Moyennes non significativement différentes entre elles dans l'ensemble.

II.E.₂₋₃ — Critique de la technique.

La grande homogénéité des résultats permet d'accorder, a priori, une plus grande fiabilité à cette technique qu'à la technique de ligature pylorique. Ainsi, une inhibition moindre de la sécrétion semble pouvoir être interprétée plus facilement dans le sens d'un résultat significatif.

III - RÉSULTATS DE LA DÉTERMINATION
COMPARATIVE DES ACTIVITÉS
ANTICHOLINERGIQUES ET ANTISÉCRÉTOIRES
DE L'ATROPINE ET DES N-METHYL
ET N-BUTYL SCOPOLAMMONIUMS

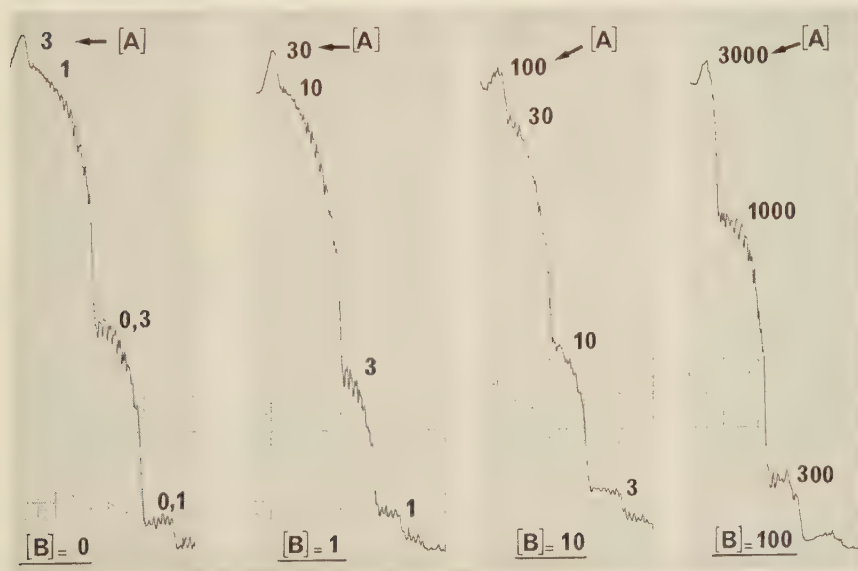
III.A. — ACTIVITE ANTICHOLINERGIQUE (DETERMINEE IN VITRO).

III.A.₁ — EXEMPLES DE COURBES DOSES-RÉPONSES ENREGISTRÉES.

A titre d'exemple, les figures 17, 18 et 19 représentent les enregistrements obtenus lors de trois séquences expérimentales au cours desquelles le furtréthonium a été utilisé comme agoniste. Sur la figure 17 l'antagonisme furtréthonium/atropine apparaît avec les caractéristiques d'une interaction compétitive. L'amplitude maximale de contraction enregistrée lors de l'expérimentation de contrôle, en

FIGURE 17

*Interaction du furtréthonium et de l'atropine :
Exemples d'enregistrements de courbes cumulatives (jéjunum de rat)*



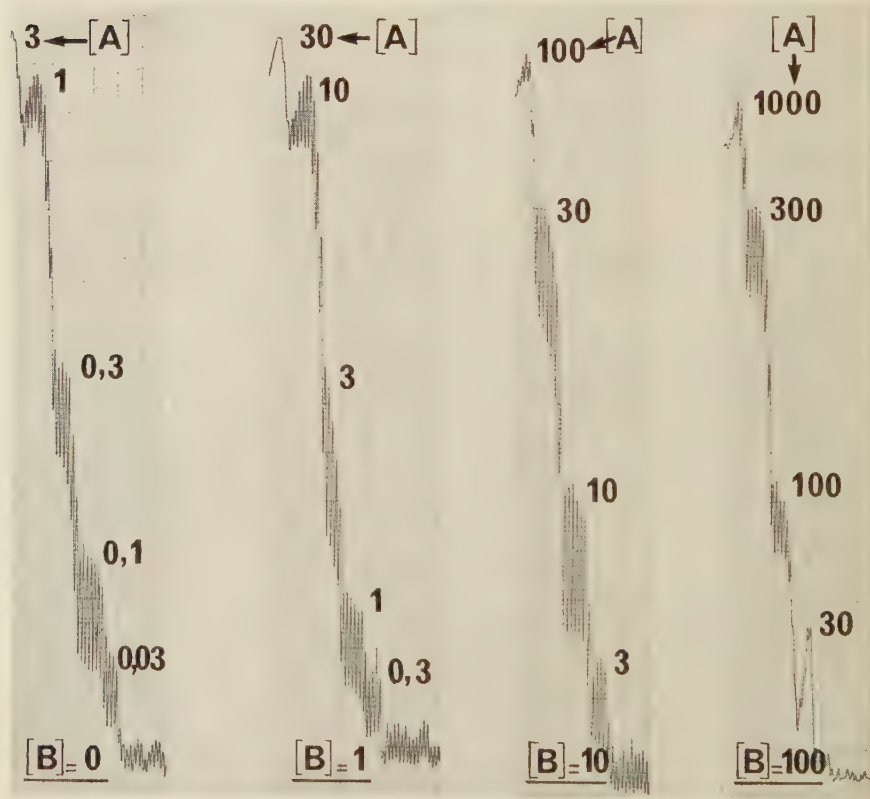
[A] : Concentration de furtréthonium $\times 10^{-5}$ Mole/litre

[B] : Concentration d'atropine $\times 10^{-8}$ Mole/litre

absence totale d'antagoniste ($B = 0$) ne semble pas significativement modifiée lorsque l'on ajoute l'atropine à la solution de survie en quantité telle que la concentration de l'antagoniste s'en trouve portée, dans la cuve, à 1.10^{-8} M/l, 1.10^{-7} M/l ou 1.10^{-6} M/l. Par contre, la concen-

FIGURE 18

*Interaction du furtréthonium et du N-méthyl scopolammonium :
Exemples d'enregistrements de courbes cumulatives*

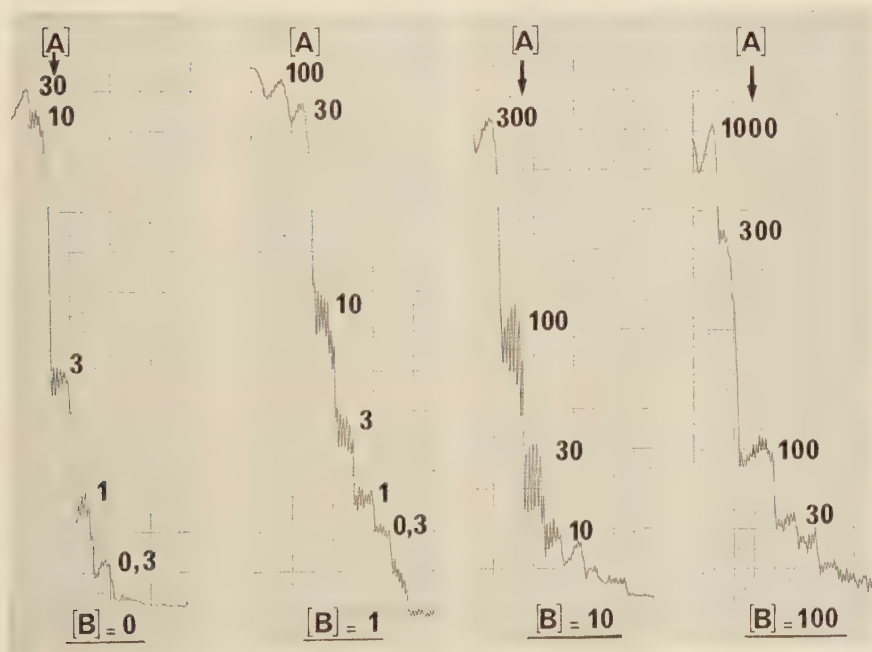


$[A]$: Concentration de furtréthonium $\times 10^{-5}$ Mole/litre

$[B]$: Concentration de N-méthyl scopolammonium $\times 10^{-9}$ Mole/litre

FIGURE 19

*Interaction du furtréthonium et du N-butyl scopolammonium :
Exemples d'enregistrements de courbes cumulatives*



[A] : Concentration de furtréthonium $\times 10^{-8}$ Mole/litre

[B] : Concentration de N-butyl scopolammonium $\times 10^{-8}$ Mole/litre

tration d'agoniste nécessaire pour provoquer cette contraction maximale se trouve, à chaque fois, plus élevée. Il est bien évident, toutefois, que cet indice d'antagonisme compétitif n'est pas suffisant pour affirmer la réalité d'un tel type d'interaction entre les deux substances. Pour cela, il sera nécessaire d'effectuer certaines vérifications supplémentaires.

Les figures 18 et 19, relatives au N-méthyl et au N-butyl scopolammoniums sont sensiblement comparables à la précédente et conduisent aux mêmes remarques.

III.A.₂ — CALCUL DES PARAMÈTRES D'AFFINITÉ POUR LES RÉCEPTEURS CHOLINERGIQUES.

Pour chacun des agonistes, les courbes cumulatives doses-réponses représentées ci-après sont établies à partir des moyennes des résultats expérimentaux. Le nombre des expérimentations ayant conduit à la détermination du profil de la courbe constituée par les points moyens se trouve précisé par la droite de régression de $\log. (x - 1)$ en fonction du logarithme de la concentration molaire de l'antagoniste, située juste au-dessous de la famille de courbes correspondantes.

Ainsi, la situation graphique de toutes les valeurs expérimentales de $\log. (x - 1)$ rend compte, pour une concentration donnée d'antagoniste, du nombre d'expérimentations réalisées, et précise donc le nombre de tracés expérimentaux ayant permis la construction de chaque « courbe moyenne » représentée au-dessus. Pour la clarté du graphique, la totalité de ces « courbes moyennes » n'a pas été reportée.

III.A.₂₋₁ — Agoniste utilisé : acétylcholine.

Les figures 20, 21 et 22 représentent les transformations graphiques des enregistrements expérimentaux, selon la méthode de van Rossum (1963), ainsi que le test de compétitivité par calcul de la pente de la droite de régression de $\log. (x - 1)$ en $\log.$ [concentration molaire d'antagoniste] selon Arunlakshana & Schild (1959).

Il faut remarquer, pour toutes les figures, le parallélisme et le non-affaissement des courbes cumulatives, ce qui confirme le caractère probablement compétitif des antagonismes étudiés.

L'étude statistique de la différence entre la pente moyenne des droites de Arunlakshana & Schild (respectivement 0,872; 0,694 et 0,764) et la valeur 1 (selon le t de Student-Fisher) démontre l'absence de différence significative, ce qui confirme la nature compétitive des antagonismes réalisés entre chacune des trois substances parasympatholytiques et l'acétylcholine.

Les résultats de la détermination des divers paramètres d'affinité pour les récepteurs cholinergiques, dans les présentes conditions expérimentales, sont rassemblés dans le tableau 22.

Utilisation d'une solution de Tyrode dépourvue d'ésérine

a) Courbes doses-réponses relatives à l'acétylcholine en présence d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammonium.

b) Détermination du pA_2 de l'antagoniste, selon Arunlakshana & Schild (1959).

Légende :

E_{AB}/E_m : contractions enregistrées après introduction de diverses concentrations de l'agoniste A pour une concentration fixe de l'antagoniste B. L'amplitude des contractions est exprimée en « pour cent » de l'amplitude maximale.

$[A]$: concentration de l'agoniste A (moles/l).

$[B]$: concentration de l'antagoniste B (moles/l).

$x = \frac{A}{a}$: rapport des concentrations d'agoniste en présence (A) ou en absence

(a) d'antagoniste, nécessaires pour obtenir la même fraction de l'effet maximal.

K_{RB} : constante de dissociation du complexe [substance B — récepteur R].

$-\log K_{RB}$ ($= pA_2$) : paramètre représentatif de l'affinité de l'antagoniste B pour le récepteur R.

FIGURE 20

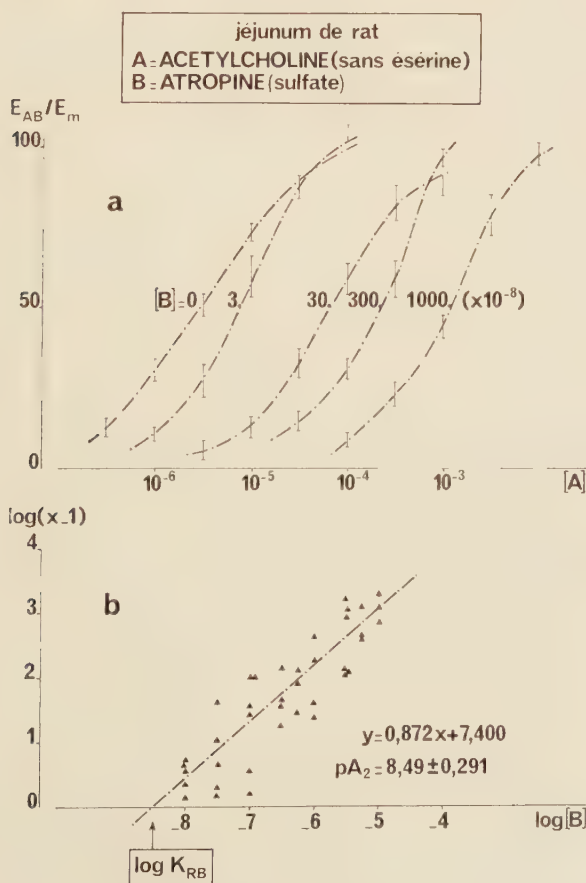


FIGURE 21

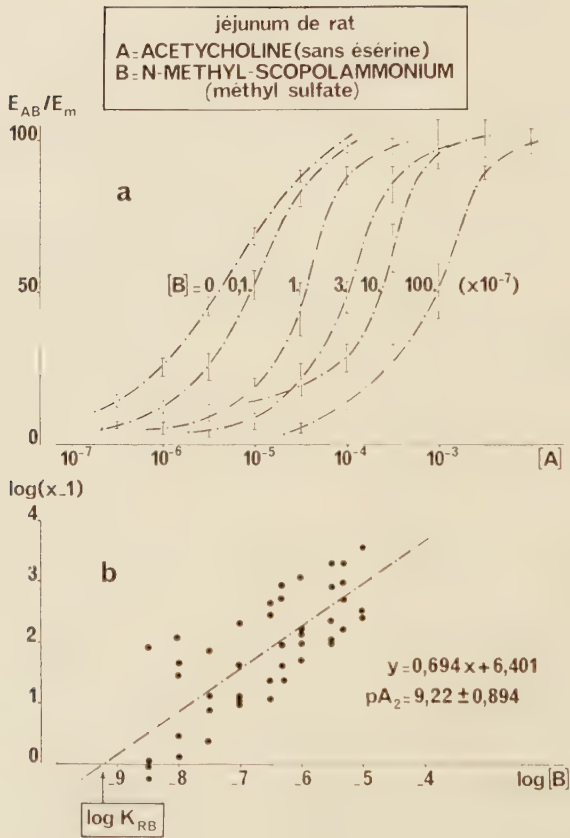
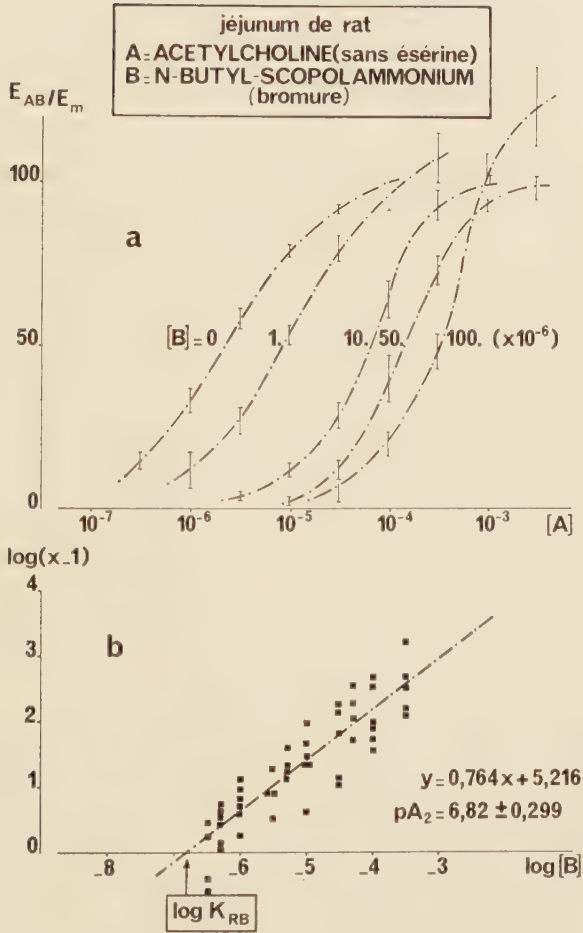


FIGURE 22



Utilisation d'une solution de Tyrode éserinée (1.10^{-7} M/l)

a) Courbes doses-réponses relatives à l'acétylcholine en présence d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammonium.

b) Détermination du pA_2 de l'antagoniste, selon Arunlakshana & Schild (1959).

Légende :

E_{AB}/E_m : contractions enregistrées après introduction de diverses concentrations de l'agoniste A pour une concentration fixe de l'antagoniste B. L'amplitude des contractions est exprimée en « pour cent » de l'amplitude maximale.

[A] : concentration de l'agoniste A (moles/l).

[B] : concentration de l'antagoniste B (moles/l).

$x = \frac{A}{a}$: rapport des concentrations d'agoniste en présence (A) ou en absence

(a) d'antagoniste, nécessaires pour obtenir la même fraction de l'effet maximal.

K_{RB} : constante de dissociation du complexe [substance B — récepteur R].

— $\log K_{RB}$ (= pA_2) : paramètre représentatif de l'affinité de l'antagoniste B pour le récepteur R.

FIGURE 23

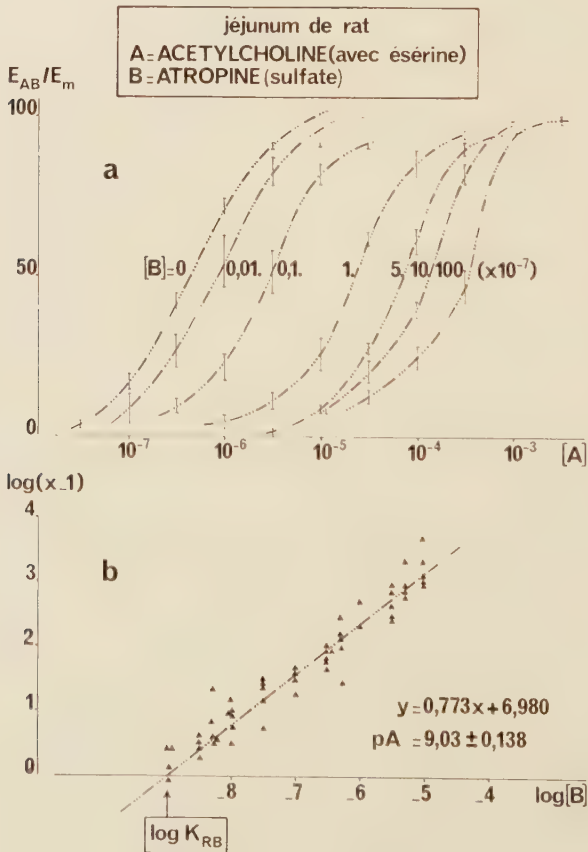


FIGURE 24

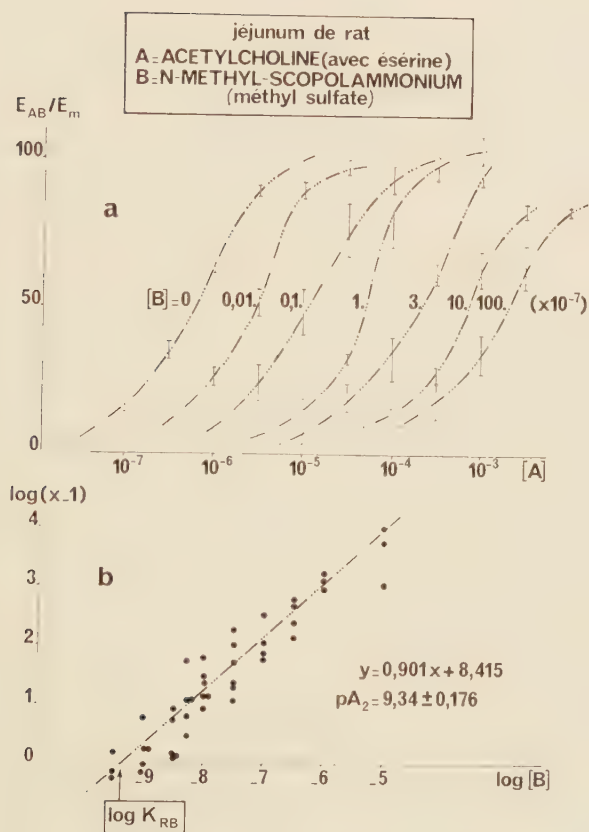


FIGURE 25

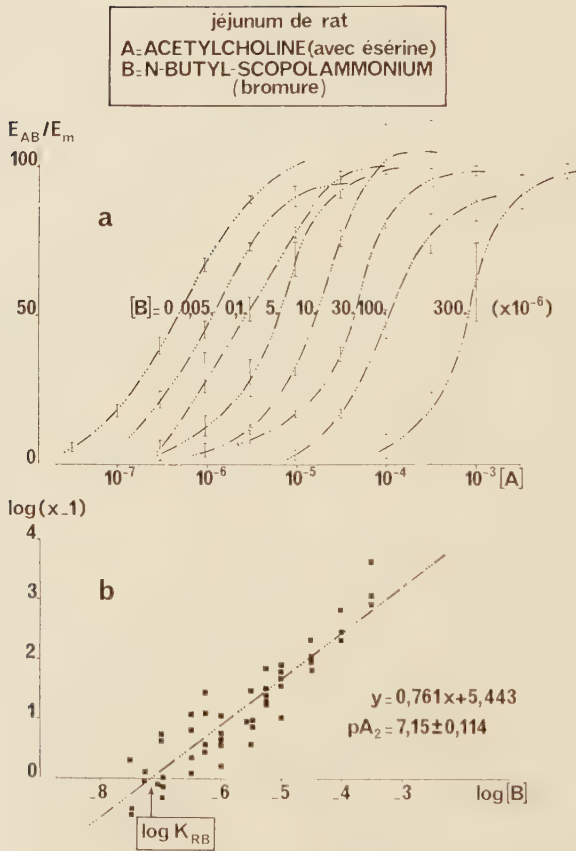


TABLEAU 22

Agonistes	Méthode de détermination des pA_2	Valeurs des pA_2 des antagonistes (1)		
		Atropine (sulfate)	N-méthylscopolammonium (méthylsulfate)	N-butyl scopolammonium (bromure)
Acétylcholine $pD_2 = 6,05 \pm 0,056$ (40)	Arunlakshana et Schild (1959)	$8,49 \pm 0,291$ (39)	$9,22 \pm 0,894$ (47)	$6,82 \pm 0,299$ (48)
	Van Rossum (1963)	$8,19 \pm 0,070$ (39)	$8,45 \pm 0,104$ (47)	$6,36 \pm 0,079$ (48)

(1) Chaque moyenne de constante d'affinité pour les récepteurs cholinergiques est suivie de son erreur standard, et, entre parenthèses, du nombre de résultats sur lequel porte le calcul de la moyenne.

Comparons les résultats relatifs à l'atropine (produit de référence de la classe pharmacologique) aux valeurs de pA_2 publiées par ailleurs. Schild (1947), après un contact de deux minutes de l'agoniste avec l'effecteur, arrive à une valeur de pA_2 égale à 8,27; s'il prolonge le contact jusqu'à quatorze minutes, le pA_2 est alors de 8,61. Il semble donc que notre évaluation soit correcte.

Ainsi qu'il a été annoncé dans le chapitre réservé à l'exposé des techniques, une détermination parallèle de ces mêmes paramètres a été réalisée en utilisant une solution de survie éserinée, à 1.10^{-7} M/l, ce qui évite l'hydrolyse de l'acétylcholine.

Les résultats graphiques sont rassemblés sur les figures 23, 24 et 25. On y reconnaît le même type de courbes parallèles que sur les

TABLEAU 23

Agonistes	Méthode de détermination des pA_2	Valeurs des pA_2 des antagonistes		
		Atropine (sulfate)	N-méthylscopolammonium (méthylsulfate)	N-butylscopolammonium (bromure)
Acétylcholine (+ éserine) $6,25 \pm 0,158$ (40)	Arunlakshana et Schild (1959)	$9,03 \pm 0,138$ (57)	$9,34 \pm 0,176$ (44)	$7,15 \pm 0,114$ (52)
	Van Rossum (1963)	$8,60 \pm 0,155$ (57)	$9,11 \pm 0,054$ (44)	$6,77 \pm 0,63$ (52)

figures 20, 21 et 22. Les pentes des droites de régression de $\log. (x - 1)$ en $\log. B$ sont, en général, plus élevées que précédemment, ce qui signe la *compétitivité réelle des différents antagonistes avec l'acétylcholine*. Les nouvelles valeurs calculées des paramètres d'affinité pour les récepteurs cholinergiques sont rassemblées dans le tableau 23.

Les valeurs de pA_2 déterminées selon ces nouvelles conditions expérimentales ne sont pas statistiquement différentes, de façon significative, des valeurs calculées précédemment. Cependant, il faut noter qu'elles se trouvent toujours supérieures aux valeurs qui furent déterminées par l'utilisation d'acétylcholine dans une solution de survie dépourvue d'ésérine. Ainsi, il ne semble pas que l'utilisation d'ésérine modifie de façon significative les valeurs des constantes d'affinité déterminées pour les antagonistes de l'acétylcholine sur le jéjunum de rat.

III.A.2-2 — Agoniste utilisé : furtréthonium.

Les pentes des droites de régression permettant de déterminer le caractère de l'antagonisme opposant le furtréthonium d'une part, l'atropine et les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums d'autre part, sont, respectivement de 0,828; 0,819 et 0,779. Elles ne sont pas différentes de la valeur 1, d'après les comparaisons statistiques classiques et corroborent donc l'impression de *compétitivité* qui se dégage de l'observation des figures 26, 27 et 28.

Les valeurs des paramètres d'affinité déterminés par l'utilisation de cet agoniste se trouvent réunies dans le tableau 24.

TABEAU 24

Agoniste	Méthode de détermination des pA_2	Valeurs des pA_2 des antagonistes		
		Atropine (sulfate)	N-méthyl scopolammonium (méthylsulfate)	N-butyl scopolammonium (bromure)
Furtréthonium	Arunlakshana et Schild (1959)	$8,73 \pm 0,193$ (27)	$9,52 \pm 0,243$ (25)	$7,42 \pm 0,111$ (27)
	Van Rossum (1963)	$8,64 \pm 0,075$ (27)	$9,25 \pm 0,097$ (25)	$7,28 \pm 0,086$ (27)

FIGURES 26, 27 et 28

a) Courbes doses-réponses relatives au furtréthonium en présence d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammonium.

b) Détermination du pA_2 de l'antagoniste, selon Arunlakshana & Schild (1959).

Légende :

E_{AB}/E_m : contractions enregistrées après introduction de diverses concentrations de l'agoniste A pour une concentration fixe de l'antagoniste B. L'amplitude des contractions est exprimée en « pour cent » de l'amplitude maximale.

$[A]$: concentration de l'agoniste A (moles/l).

$[B]$: concentration de l'antagoniste B (moles/l).

$\alpha = \frac{A}{a}$: rapport des concentrations d'agoniste en présence (A) ou en absence

(a) d'antagoniste, nécessaires pour obtenir la même fraction de l'effet maximal.

K_{RB} : constante de dissociation du complexe [substance B — récepteur R].

$-\log K_{RB} (= pA_2)$: paramètre représentatif de l'affinité de l'antagoniste B pour le récepteur R.

FIGURE 26

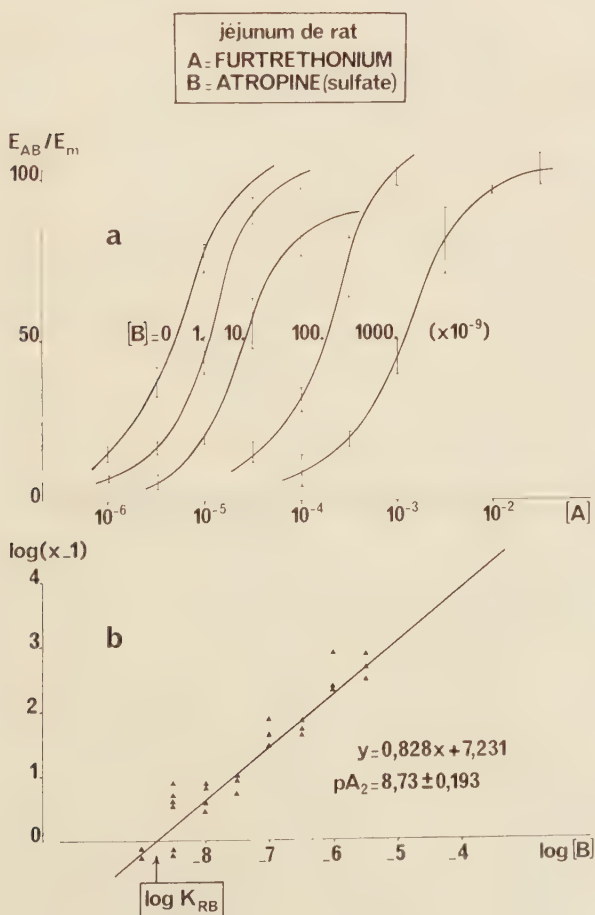


FIGURE 27

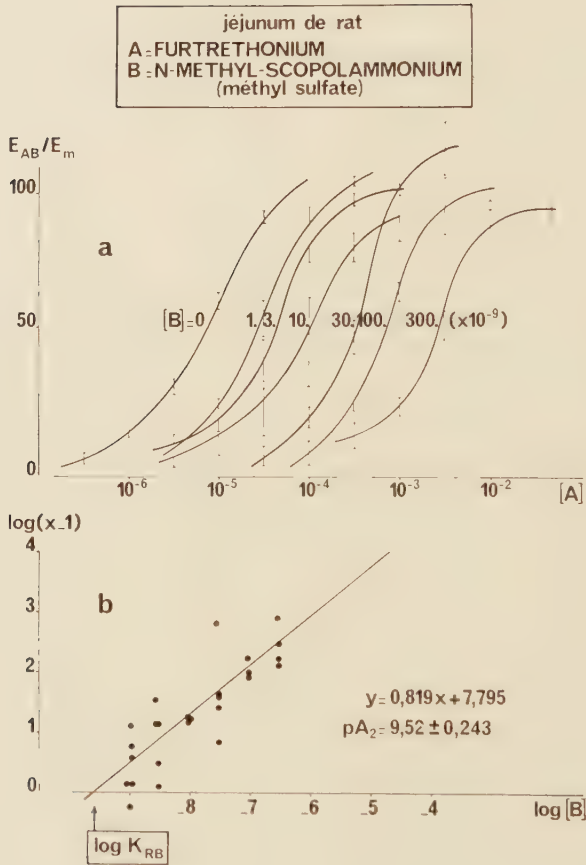
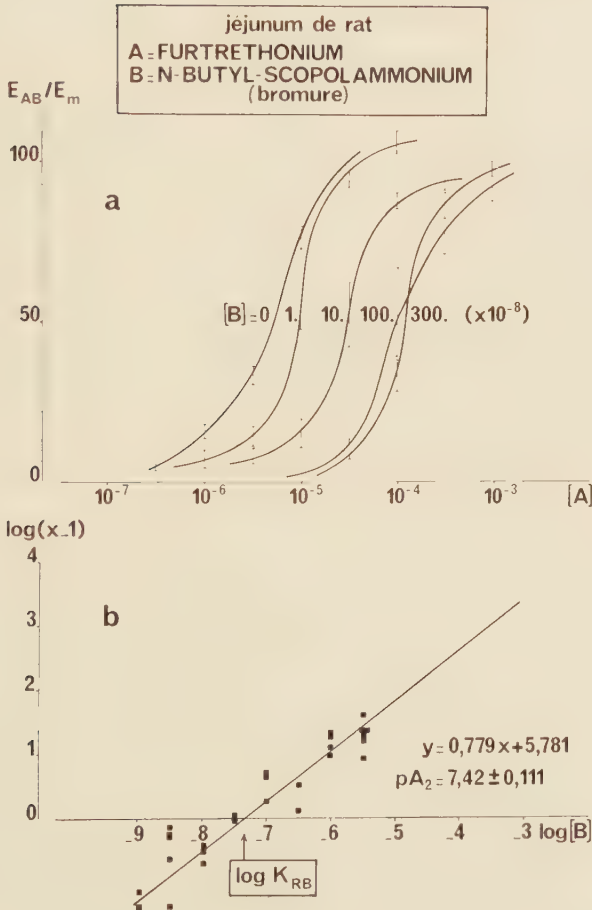


FIGURE 28



La très grande similitude des résultats obtenus après utilisation de la méthode de Arunlakshana & Schild ou de celle de van Rossum est particulièrement nette sur ce tableau. Il est possible, ainsi que l'ont écrit Ariens & al. (1957 et 1960), puis van Rossum (1963) que l'étonnante *résistance du furtréthonium à l'action de l'acétylcholinestérase* soit à l'origine de la bonne *reproductibilité des résultats*. Toutefois, lorsque l'acétylcholine fut utilisée comme agoniste (paragraphes précédents), de très faibles différences, statistiquement non significatives, sont seulement apparues entre les valeurs moyennes des pA_2 , à la suite d'adjonction d'ésérine à la solution de Tyrode. Enfin, ces valeurs ne sont pas différentes de façon statistiquement significative des valeurs déterminées avec le furtréthonium et reportées sur le tableau 24. En conclusion, il nous semble que les *faibles différences observées proviennent plutôt de la décomposition très rapide de l'acétylcholine en solutions diluées*, décomposition qui vient fausser les concentrations d'agoniste dans la cuve.

Sur le même effecteur et en utilisant le même agoniste, van Rossum (1963) évaluait le pA_2 de l'atropine à 8,9; cinq ans plus tard, Rey & Barbe retrouvaient une valeur moyenne identique et lui attribuaient une erreur standard importante: $8,93 \pm 0,40$. Les valeurs présentées sur le tableau 24 sont du même ordre de grandeur, ce qui nous permet de penser que l'évaluation des paramètres d'affinité des deux autres antagonistes a été également réalisée correctement.

Remarquons que si les résultats de ces déterminations de l'affinité de l'atropine pour les récepteurs muscariniques, présentés sur le tableau 24 restent très proches de ceux des auteurs qui viennent d'être cités, ils sont assez éloignés de ceux de Shulman & al. (1970) qui trouvent une valeur moyenne de $9,37 \pm 0,13$ après une expérimentation de ce même type.

III.A.₂₋₃ — Agoniste utilisé : carbachol.

L'observation des courbes représentées sur les figures 29, 30 et 31 conduit à la constatation d'un parallélisme certain entre les diverses familles de tracés, lequel se double d'un affaissement net pour les plus fortes concentrations de N-méthyl scopolammonium. Assez curieusement, les pentes des droites de régression indiquent un angle non significativement différent de 45 degrés, et traduisent un déplacement des courbes vers la droite qui suit les lois de la compétitivité. Nous avons pu signaler, par ailleurs, un phénomène comparable pour l'antagonisme exercé par les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums vis-à-vis de l'arécoline (Labrid & al., 1974). Ainsi, pour le carbachol et l'arécoline, *un dualisme d'antagonisme semble apparaître*. Des valeurs pD_2 situant l'affinité de ces substances pour des récepteurs particuliers, différents des récepteurs muscariniques, ont pu être calculées. Cette apparente dualité d'action rejoint les observations de Koelle (1970), Ehrenpreis (1967), Ariens & Simonis (1967), Chiou & Long (1969) et Takagi & al. (1970); elle peut faire penser à une activité pseudo-irréversible des antagonistes, avec existence, pour l'arécoline et le carbachol, d'une importante réserve de récepteurs. L'hypothèse de l'existence de récepteurs muscariniques « R_2 » propres à l'arécoline et au carbachol, et différents des récepteurs « R_1 », sensibles à l'acétylcholine et au furtréthonium, doit aussi être avancée (Labrid & al., 1974). Cependant, il ne faut pas oublier que tous les anticholi-

a) Courbes doses-réponses relatives au carbachol en présence d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammonium.

b) Détermination du pA_2 de l'antagoniste, selon Arunlakshana & Schild (1959).

Légende :

E_{AB}/E_m : contractions enregistrées après introduction de diverses concentrations de l'agoniste A pour une concentration fixe de l'antagoniste B. L'amplitude des contractions est exprimée en « pour cent » de l'amplitude maximale.

[A] : concentration de l'agoniste A (moles/l).

[B] : concentration de l'antagoniste B (moles/l).

$x = \frac{A}{a}$: rapport des concentrations d'agoniste en présence (A) ou en absence

(a) d'antagoniste, nécessaires pour obtenir la même fraction de l'effet maximal.

K_{RB} : constante de dissociation du complexe [substance B — récepteur R].

$-\log K_{RB}$ ($= pA_2$) : paramètre représentatif de l'affinité de l'antagoniste B pour le récepteur R.

FIGURE 29

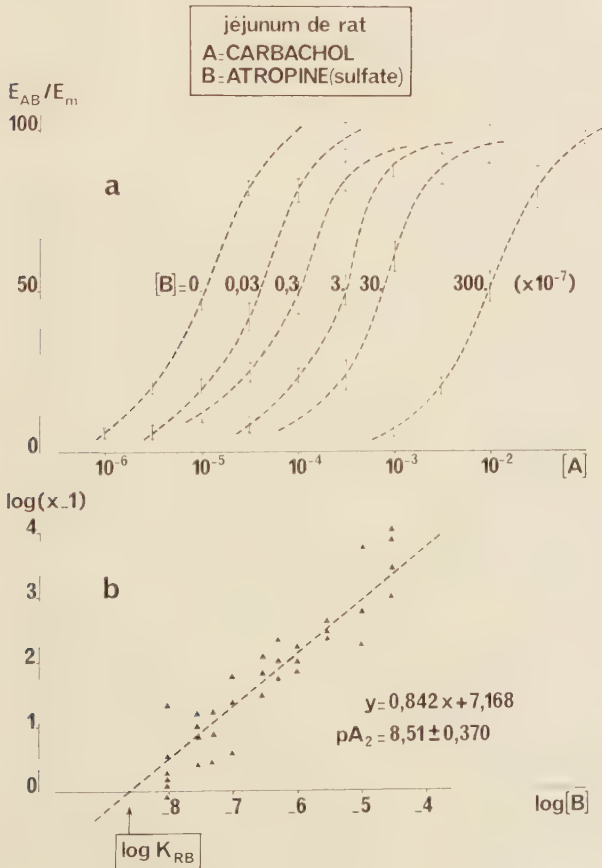


FIGURE 30

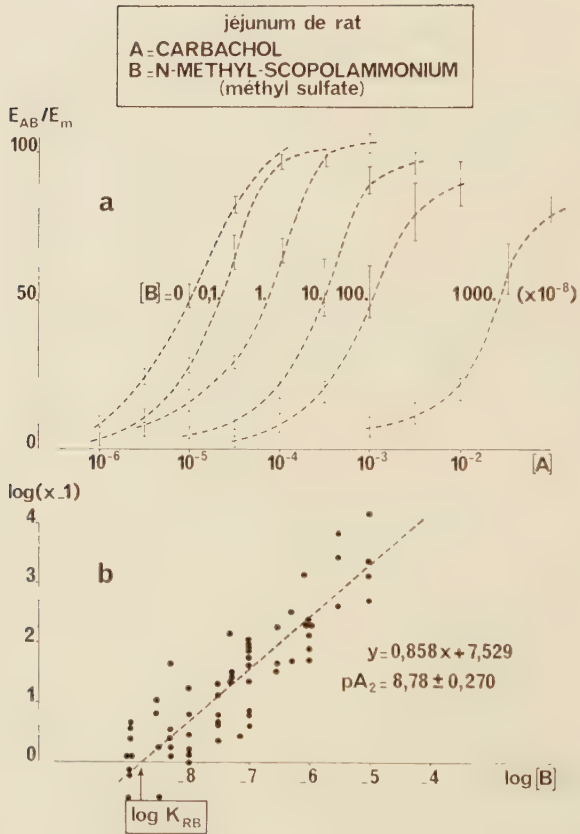
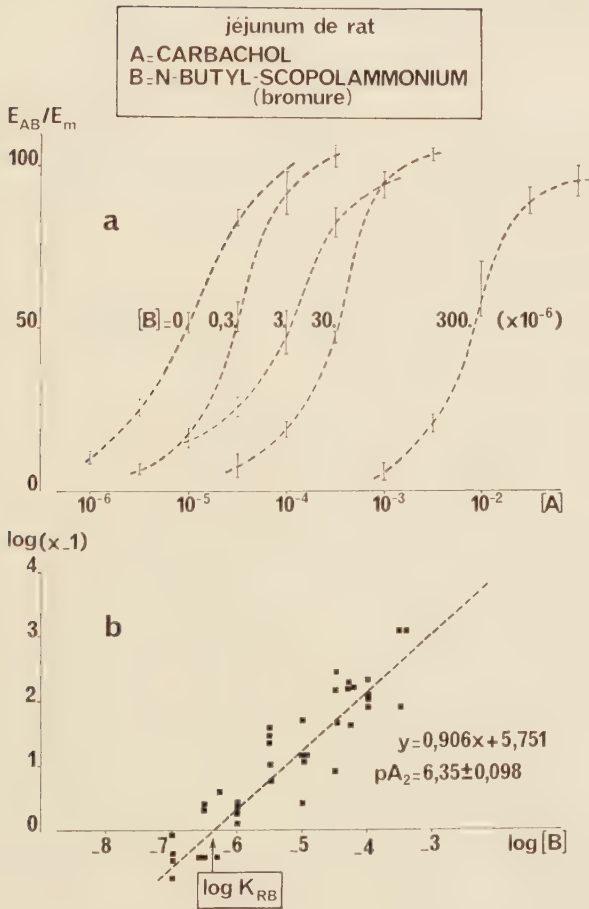


FIGURE 31



nergiques puissants, comme l'atropine, manifestent une efficacité supérieure, lorsqu'ils sont appliqués pour la première fois sur un organe isolé, comparativement à l'efficacité des doses qui suivront. Maegwyn-Davies & Oroszlan (1967) pensent que se forment des *complexes irréversibles* avec les protéines réceptrices lors du premier contact de l'antagoniste, ce qui *simulerait* ensuite une inhibition non compétitive. Il convient aussi de rester très prudent lors de l'interprétation de la dualité apparente de l'interaction observée avec le carbachol et avec d'autres cholinomimétiques à cause de leur *action en partie indirecte* (Pomeroy & Raper, 1973). Par voie de conséquence, il semble que *les constantes d'affinité déterminées à l'aide de l'acétylcholine et surtout du furtréthonium soient beaucoup moins discutables; elles devront être retenues de préférence à celles qui sont rassemblées dans le tableau 25.*

TABLEAU 25

Agoniste	Méthode de détermination des pA_2 et pD'_2 des antagonistes	Paramètres d'affinité des substances antagonistes		
		Atropine (sulfate)	N-méthylscopolammonium (méthylsulfate)	N-butylscopolammonium (bromure)
Carbachol $pD_2 = 5,38 \pm 0,087$ (40)	Arunlakshana et Schild (1959)	$pA_2 = 8,51 \pm 0,370$ (44)	$pA_2 = 8,78 \pm 0,270$ (66)	$pA_2 = 6,35 \pm 0,098$ (39)
	Van Rossum (1963)	$pA_2 = 8,67 \pm 0,068$ (44)	$pA_2 = 8,62 \pm 0,063$ (66)	$pA_2 = 6,31 \pm 0,070$ (39)
		$pD'_2 = 5,77 \pm 0,438$ (12)	$pD'_2 = 6,38 \pm 0,271$ (17)	$pD'_2 = 4,24 \pm 0,642$ (3)

Les résultats publiés par Hugdins & Stubbins (1969) qui font état d'un pA_2 de $8,6 \pm 0,11$ (12) pour l'atropine, déterminé dans les mêmes conditions expérimentales que celles qui furent observées pour les présentes études, recourent exactement les résultats du tableau 25.

III.A.₃ — ECHELLE D'ACTIVITÉS ANTICHOLINERGIQUES RELATIVES DÉTERMINÉE IN VITRO POUR L'ATROPINE, LES N-MÉTHYL ET N-BUTYL SCOPOLAMMONIUMS.

Afin d'apprécier la potentialité relative des trois substances parasympatholytiques, à partir des paramètres d'affinité pour les récepteurs muscariniques tels qu'ils viennent d'être calculés, nous devons rappeler que le pA_2 représente le *logarithme* de l'inverse de la concentration d'antagoniste qui réduit l'effet d'une dose x d'agoniste à celui d'une dose $x/2$. En d'autres termes, *pour calculer le rapport arithmétique des potentialités des trois anticholinergiques, il faut considérer les concentrations molaires de chaque substance, nécessaires pour la manifestation de l'effet correspondant au pA_2 , et non pas la valeur du pA_2 elle-même.*

Soient $[a]$ $[b]$ et $[c]$ les concentrations molaires de l'atropine (A), du N-méthyl scopolammonium (M.S.) et du N-butyl scopolammonium (B.S.) qui réduisent l'effet d'une dose x d'agoniste à celui d'une dose $x/2$.

On peut écrire :

$$\log. \frac{1}{[a]} = pA_2 (A)$$

$$\log. \frac{1}{[b]} = pA_2 (M.S.)$$

$$\log. \frac{1}{[c]} = pA_2 (B.S.)$$

Puisque le pA_2 du N-méthyl scopolammonium possède, dans tous les cas expérimentaux, la valeur la plus élevée, cela signifie que l'affinité de cette substance pour les récepteurs cholinergiques est supérieure à celle des autres produits; sa potentialité anticholinergique est donc la plus forte.

Evaluons l'intensité des activités de l'atropine et du N-butyl scopolammonium par rapport à celle du N-méthyl scopolammonium.

Prenons l'exemple de l'atropine.

La différence $pA_2 (M.S.) - pA_2 (A)$ revient à écrire :

$$\log. \frac{1}{[b]} - \log. \frac{1}{[a]} \quad \text{soit} \quad \log. \left(\frac{1}{[b]} / \frac{1}{[a]} \right)$$

$$\text{ou encore} \quad \log. \left(\frac{[a]}{[b]} \right).$$

Ainsi, la différence entre les valeurs pA_2 du N-méthyl scopolammonium et de l'atropine sera égale au logarithme du rapport des concentrations d'atropine et de N-méthyl scopolammonium qui entraînent, in vitro, le même effet.

On tient le même raisonnement pour l'activité du N-butyl scopolammonium par rapport au N-méthyl scopolammonium, et l'on peut ainsi, à l'aide d'une table de logarithmes, retrouver les concentrations des trois parasympatholytiques équi-actives in vitro.

Les calculs intermédiaires conduisant à l'évaluation des potentialités relatives de l'atropine et du N-butyl scopolammonium, par rapport à l'activité de la substance la plus efficace, le N-méthyl scopolammonium, sont rassemblés dans le tableau 26.

TABLEAU 26

Récapitulation des coefficients par lesquels doit être multipliée la concentration de N-méthyl scopolammonium pour trouver les concentrations d'atropine et de N-butyl scopolammonium qui exercent la même activité anticholinergique.

Substances antagonistes	Technique d'évaluation des pA_2	Substances agonistes					
		Acétylcholine		Acétylcholine (+ éserine)		Furtréthonium	
		I	II	I	II	I	II
Atropine (A)	A.S.	0,73	5,37	0,31	2,04	0,79	6,17
	V.R.	0,26	1,82	0,51	3,24	0,61	4,07
N-butyl scopolammonium (B.S.)	A.S.	2,40	251	2,19	155	2,10	125,9
	V.R.	2,09	123	2,34	218	1,97	93,3

$I = \text{valeur de la différence } pA_{2(M.S.)} - pA_{2(A) \text{ ou } (B.S.)}$

soit $\log. \frac{[a] \text{ ou } [c]}{[b]}$

(M.S.) = N-méthyl scopolammonium.

$II = \text{valeur de } \frac{[a] \text{ ou } [c]}{[b]}$, c'est-à-dire du rapport des concentrations des

substances (A) ou (B.S.) à celle de la substance (M.S.) pour que les effets anticholinergiques obtenus soient les mêmes (antilogarithme de la valeur correspondante de la colonne I).

A.S. = Arunlakshana & Schild (1959).

V.R. = Van Rossum (1963).

Le tableau 26 fait apparaître les fluctuations des activités anticholinergiques relatives des trois substances telles qu'elles ont pu être déterminées in vitro.

Ainsi, selon la technique et l'agoniste choisis, *il aura fallu utiliser des concentrations d'atropine 1,82 à 6,17 fois plus élevées que celles du N-méthyl scopolammonium pour qu'un même effet anticholinergique soit enregistré.* De même, *il aura fallu employer le N-butyl scopolammonium à des concentrations 93 à 251 fois plus élevées que celles de son homologue méthylé, pour que l'effet antagoniste des cholinomimétiques soit le même.*

Les fluctuations sont donc importantes, mais elles permettent tout de même l'établissement d'une échelle d'activités relatives, surtout si l'on tient compte du fait qu'il convient d'accorder une plus grande validité aux valeurs déterminées après utilisation du furtréthonium, comme cela a été discuté ci-dessus. En corollaire, il apparaît qu'il serait parfaitement superflu de tenir compte des faibles variations pondérales que l'on observe entre les équivalents basiques des trois composés (327, 428 et 440) pour proposer une « échelle pondérale » différente de l'échelle exprimée sous forme de « concentrations molaires », et pour laquelle les produits exercent une équivalences anticholinergique. La récapitulation de ces valeurs essentielles pour la poursuite du travail expérimental apparaît sur le tableau suivant (tableau 27).

TABLEAU 27

Echelle d'activité anticholinergique relative pour l'atropine, le N-méthyl et le N-butyl scopolammoniums.

Substances anticholinergiques	Concentrations molaires relatives entraînant le même effet		Activité relative
	Résultats extrêmes	Moyenne estimée	
N-méthyl scopolammonium (méthylsulfate)	1	1	1
Atropine (sulfate)	1,8 - 6,2	4	0,25
N-butyl scopolammonium (bromure)	93 - 251	100 à 125	0,008 à 0,010

Dans ce tableau, les moyennes des concentrations molaires entraînant le même effet antimuscarinique ne sont (et ne peuvent être) qu'estimées. En effet, une moyenne arithmétique des résultats obtenus à partir des différentes techniques ne signifierait rien : chacun d'entre eux-ci doit être pondéré, critiqué, réévalué. C'est bien l'expérimentateur et non la machine à calculer qui, dans une telle situation, doit conserver le pouvoir de décision et d'appréciation.

Ainsi, les doses de *N*-méthyl scopolammonium, d'atropine, et de *N*-butyl scopolammonium qui seront utilisées *in vivo* devront respecter, approximativement, l'échelle [1/4/100 à 125] pour être proportionnelles aux inverses des intensités d'action anticholinergique, telles qu'elles ont été déterminées *in vitro*.

Cette échelle est sensiblement différente de celle qui fut établie en 1970 par Sund, lequel arrivait, avec les mêmes substances (à l'exception du sel de *N*-méthyl scopolammonium utilisé, qui était alors le nitrate), à une relation [1/2/500].

III.B. ACTIVITE ANTISECRETOIRE.

III.B.₁ — INHIBITION DE LA RÉPONSE SÉCRÉTOIRE DU RAT (PORTEUR D'UNE FISTULISATION GASTRIQUE PERMANENTE), CONSÉCUTIVE A UNE STIMULATION INSULINIQUE.

Les substances anticholinergiques ont été administrées par voie sous-cutanée selon deux séquences de doses qui respectent la proportionnalité d'équi-activité telle qu'elle a été définie in vitro.

Ces séquences sont les suivantes :

	<i>Atropine</i>	<i>N-méthyl scopolammonium</i>	<i>N-butyl scopolammonium</i>
<i>Première séquence</i>	1 mg/kg	0,25 mg/kg	25 mg/kg
<i>Deuxième séquence</i>	2 mg/kg	0,5 mg/kg	50 mg/kg

En outre, une expérimentation complémentaire a permis de mieux estimer, pour chaque substance, la relation dose/réponse biologique. Les trois doses supplémentaires administrées, sans relation d'équipotentialité anticholinergique, ont été de :

- 0,5 mg/kg pour l'atropine;
- 1 mg/kg pour le N-méthyl scopolammonium;
- 12,5 mg/kg pour le N-butyl scopolammonium.

Les réponses sécrétoires obtenues, dans chacune de ces situations expérimentales, se trouvent précisées par les courbes constituant les figures 32, 33 et 34. Ces résultats, exprimés par les débits acides totaux (mEq d'acide chlorhydrique excrétés en cinq heures) sur le tableau 28, montrent que l'administration d'anticholinergique, aux doses précisées ci-dessus, entraîne toujours une diminution significative de la sécrétion.

FIGURE 32

*Inhibition par l'atropine (sulfate) de la sécrétion gastrique acide
stimulée par injection d'insuline,
chez le Rat vigile à fistulisation permanente*

Légende :

• Insuline : injection sous-cutanée d'insuline à la dose de 0,2 unité par animal de 250-300 grammes.

C : expérimentation de contrôle (insuline seule).

A : expérimentation avec injection sous-cutanée d'atropine (aussitôt après la stimulation insulinique) :

I (A-0,5) à la dose de 0,5 mg/kg (10 animaux).

II (A-1) à la dose de 1 mg/kg (44 animaux).

III (A-2) à la dose de 2 mg/kg (32 animaux).

— Les traits verticaux représentent les erreurs-standards de chaque moyenne.

— Le débit acide concerne l'acidité totale, dosée à pH 8,5.

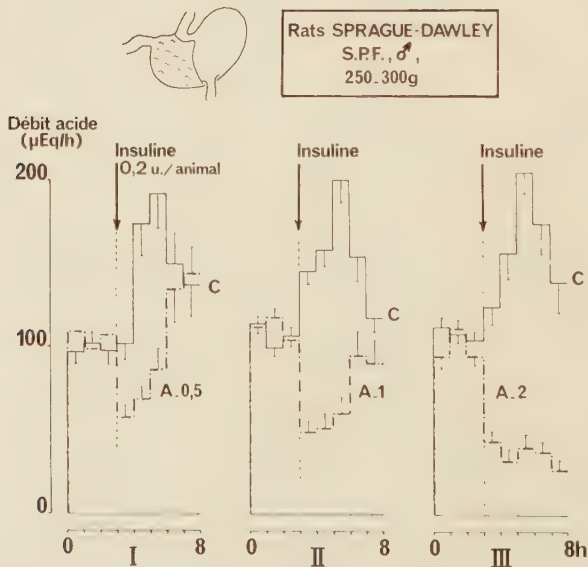


FIGURE 33

*Inhibition par le N-méthyl scopolammonium (méthylsulfate)
de la sécrétion gastrique acide, stimulée par injection d'insuline,
chez le Rat vigile à fistulisation permanente*

Légende :

• Insuline : injection sous-cutanée d'insuline à la dose de 0,2 unité par animal de 250-300 grammes.

C : expérimentation de contrôle (insuline seule).

MS : expérimentation avec injection sous-cutanée de N-méthyl scopolammonium (aussitôt après la stimulation insulinique) :

I (MS-0,25) à la dose de 0,25 mg/kg (35 animaux).

II (MS-0,5) à la dose de 0,5 mg/kg (24 animaux).

III (MS-1) à la dose de 1 mg/kg (14 animaux).

— Les traits verticaux représentent les erreurs-standards de chaque moyenne.

— Le débit acide concerne l'acidité totale, dosée à pH 8,5.

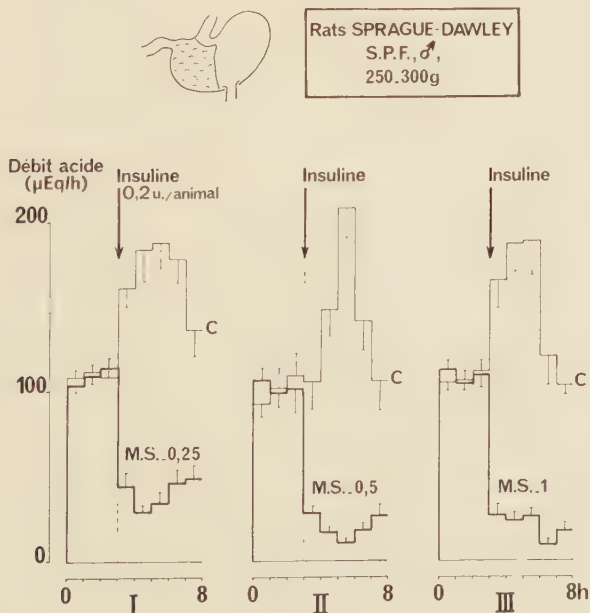


FIGURE 34

*Inhibition par le N-butyl scopolammonium (bromure)
de la sécrétion gastrique acide stimulée par injection d'insuline,
chez le Rat vigile à fistulisation permanente*

Légende :

• Insuline : injection sous-cutanée d'insuline à la dose de 0,2 unité par animal de 250-300 grammes.

C : expérimentation de contrôle (insuline seule).

BS : expérimentation avec injection sous-cutanée de N-butyl scopolammonium (aussitôt après la stimulation insulinique) :

I (BS-12,5) à la dose de 12,5 mg/kg (30 animaux).

II (BS-25) à la dose de 25 mg/kg (27 animaux).

III (BS-50) à la dose de 50 mg/kg (12 animaux).

— Les barres verticales représentent les erreurs-standards de chaque moyenne.

— Le débit acide concerne l'acidité totale, dosée à pH 8,5.

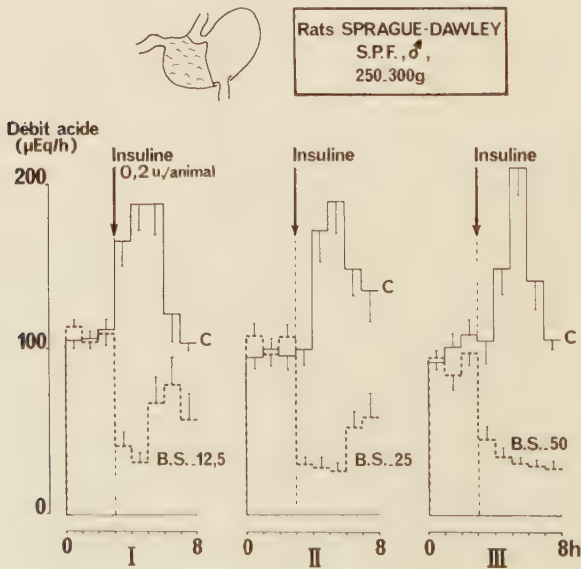


TABLEAU 28

Détermination de l'activité antisécrétoire de l'atropine, des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums chez le Rat vigile subissant une stimulation insulínique.

Montage expérimental : fistule gastrique chronique.

Produits	Traitement (1)	Nombre d'animaux par lot	Débit acide total (2)	Comparaison statistique (3)	Pourcentage d'inhibition du débit acide
Atropine	C (4)	10	727 ± 21,4	t = 10,916	↓ 32,5 %
	0,5 mg/kg	10	488 ± 12,7	**	
	C	45	747 ± 28,6	t = 10,393	↓ 54 %
	1 mg/kg	45	344 ± 36,5	**	
	C	32	742 ± 30,4	t = 15,339	↓ 73,5 %
	2 mg/kg	32	196 ± 18,3	**	
N-méthyl scopolammonium	C	35	842 ± 41,8	t = 13,253	↓ 74,5 %
	0,25 mg/kg	35	215 ± 18,8	**	
	C	24	696 ± 49,7	t = 11,769	↓ 85 %
	0,5 mg/kg	24	752 ± 43,1	**	
	C	14	104 ± 12,8	t = 12,935	↓ 85,5 %
	1 mg/kg	14	748 ± 45,7	**	
N-butyl scopolammonium	C	30	109 ± 10,3	t = 8,030	↓ 63,5 %
	12,5 mg/kg	30	274 ± 39,7	**	
	C	27	729 ± 35,9	t = 15,499	↓ 71 %
	25 mg/kg	27	212 ± 23,3	**	
	C	12	687 ± 38,5	t = 13,047	↓ 74 %
	50 mg/kg	12	178 ± 7,05	**	

(1) Lorsque le traitement comprend une injection S.C. d'anticholinergique, celle-ci survient simultanément à la stimulation insulínique.

(2) Débit acide total (HCl dosé à pH 8,5 par virage de la phénolphthaléine) : mEq/5 h ± erreur standard.

(3) Comparaison statistique lot traité/lot contrôle par comparaison des variances puis calcul du t de Student-Fisher.

(4) C = lot « contrôle » subissant seulement une stimulation insulínique (0,3 U/kg S.C.).

** Moyennes très significativement différentes ($P < 0,01$).

Pour la première séquence de doses équi-actives *in vitro*, l'inhibition exercée respectivement par l'atropine, le N-méthyl scopolammonium et le N-butyl scopolammonium se situe à 54 p. 100, 74 p. 100 et 71 p. 100 (par rapport à la sécrétion du lot témoin expérimenté simultanément). Ces valeurs sont-elles significativement différentes entre elles? Une comparaison directe des débits moyens des groupes ayant reçu les différents traitements a été tentée, après vérification de la comparabilité des groupes de contrôle correspondants. Cette étude statistique est reportée sur le tableau 29. Sur ce tableau, la moitié inférieure gauche est consacrée aux résultats du calcul du F, du t et, éventuellement, du P, pour les groupes de contrôle qui correspondent au traitement considéré.

Ainsi, il apparaît que :

- les moyennes des groupes de contrôle (correspondant aux groupes ayant reçu le traitement par l'atropine à une dose de 1 mg/kg et par le N-méthyl scopolammonium à une dose de 0,25 mg/kg) sont significativement différentes entre elles ($P < 0,05$). Ainsi, les moyennes des groupes ayant reçu les traitements ne peuvent être comparées entre elles;

- les moyennes des groupes de contrôle relatifs au traitement par l'atropine (1 mg/kg) et le N-butyl scopolammonium (25 mg/kg) ne sont pas significativement différentes entre elles. Les groupes « traités » correspondant peuvent alors être comparés. Si l'on se reporte à la partie supérieure droite du tableau, on s'aperçoit que les moyennes des groupes ayant reçu les traitements considérés ne peuvent être comparées, leurs variances étant significativement différentes. En revanche, dans les conditions expérimentales qui ont été observées, la dose de 25 mg/kg de N-butyl scopolammonium exerce, ainsi que le met en évidence le tableau, la même inhibition de la sécrétion gastrique du Rat que la dose de 2 mg/kg d'atropine. Cette équi-activité antisécrétoire se trouve confirmée par le fait que le N-butyl scopolammonium, administré à 12,5 mg/kg, entraîne le même effet que l'atropine administrée à 1 mg/kg. Ces résultats sont parfaitement concordants.

Que peut-on en déduire sur le plan de l'évaluation de l'activité relative de chaque substance? Si l'on s'en tient aux conclusions statistiques, il faut admettre que le rapport d'activité de l'atropine et du N-butyl scopolammonium se trouve réduit de 1/25 (*in vitro*) à 1/12,5 (*in vivo* et dans les conditions de cette expérience). Cette réduction du rapport est-elle due à une diminution d'activité relative de l'atropine ou à une augmentation de celle du N-butyl scopolammonium, comparativement à leur potentialité anticholinergique? Le fait que le rapport d'activité N-méthyl scopolammonium/N-butyl scopolammonium se trouve lui aussi réduit de 1/100 à 1/50 plaide plutôt en faveur d'une augmentation de l'activité relative du N-butyl scopolammonium.

Toutefois, la grande variation des résultats d'un groupe d'animaux à un autre, mise en évidence précédemment (cf. étalonnage des techniques utilisées), rend délicate l'interprétation de ces résultats.

En conclusion, il semblerait que ces premiers résultats obtenus *in vivo* fassent apparaître une distorsion de l'échelle d'activité relative établie *in vitro*. La proportion des doses de N-méthyl scopolammonium, atropine et N-butyl scopolammonium entraînant un même effet antisécrétoire chez le Rat à fistule gastrique permanente et subissant une stimulation insulinique, devient 1/4/50.

TABLEAU 29

Sécrétion gastrique du Rat à fistule chronique : Comparaisons statistiques bilatérales des différents débits acides moyens (mEq/5 h) des groupes de contrôle (partie inférieure gauche) et des groupes ayant reçu un anticholinergique (partie supérieure droite).

Produits	S.C.	N-méthyl scopolammonium			N-butyl scopolammonium			Atropine		
		0,25	0,5	1	12,5	25	50	0,5	1	2
N-méthyl scopolammonium - 0 mm.	0,25		Témoins non comparables	6,249	3,822	Témoins non comparables	Témoins non comparables	Témoins non comparables	Témoins non comparables	Témoins non comparables
	0,50	1,432 2,721 P < 0,01		2,670 VS	12,032 VS	3,734 VS	Témoins non comparables	Témoins non comparables	15,260 VS	2,737 2,199 P < 0,05
	1	2,1 1,462 NS	2,922 0,760 NS		21,531 VS	9,787 VS	2,514 1,135 NS	Témoins non comparables	39,990 VS	7,173 VS
N-Butyl scopolammonium	12,5	1,005 1,782 NS	1,006 1,868 NS	1,9 0,361 NS		3,321 VS	79,296 VS	Témoins non comparables	1,268 1,934 NS	4,195 VS
	25	1,751 2,142 P < 0,05	1,866 1,584 NS	1,142 0,273 NS	1,599 0,413 NS		24,612 VS	Témoins non comparables	4,086 VS	1,364 0,407 NS
	50	3,424 VS	3,321 VS	1,641 0,764 NS	3,131 0,038 NS	1,955 0,002 NS		2,721 4,677 P < 0,001	100,57 VS	18,038 VS
Atropine	0,5	1,751 VS	1,527 VS	6,331 VS	12,183 VS	7,622 VS	3,832 0,459 NS		Témoins non comparables	Témoins non comparables
	1	1,653 2,065 P < 0,05	1,805 1,807 NS	1,259 0,005 NS	1,513 0,091 NS	1,056 0,368 NS	2,065 0,020 NS	8,052 VS		5,575 VS
	2	2,064 2,019 P < 0,05	1,999 0,834 NS	1,011 0,095 NS	1,885 0,138 NS	1,178 0,233 NS	1,661 0,747 NS	6,160 VS	1,215 0,125 NS	

Chaque case comporte la valeur du F de Snedecor; le cas échéant, la valeur du t de Student-Fisher, et la conclusion statistique :

VS ≠ : variances significativement différentes.

NS ≠ : moyennes non significativement différentes.

P < x : moyennes significativement différentes et valeur supérieure du P correspondant.

III.B.₂ — INHIBITION DE LA RÉPONSE SÉCRÉTOIRE DU CHIEN
(PORTEUR D'UNE FISTULISATION GASTRIQUE PERMANENTE),
CONSÉCUTIVE A UNE STIMULATION INSULINIQUE.

Les anticholinergiques sont administrés par voie intraveineuse simultanément à la stimulation insulinique; les doses retenues, proportionnelles aux concentrations induisant une équi-activité lors des études in vitro, sont de 2,5; 10 et 250 $\mu\text{g/kg}$ respectivement pour le N-méthyl scopolammonium, l'atropine et le N-butyl scopolammonium.

Chaque expérimentation a été répétée quatre fois chez le même animal; les moyennes des débits volumiques, acides et pepsiniques enregistrés se trouvent reportés sur les figures 35, 36 et 37. Lorsque l'on considère rapidement chacune de ces trois figures, il semble que le modèle expérimental amplifie les écarts d'activité notés in vitro, entre les trois substances. Ainsi, le produit le plus actif, le N-méthyl scopolammonium, paraît exercer ici encore l'inhibition la plus intense tandis que la substance la moins anticholinergique, le N-butyl scopolammonium, inhibe beaucoup moins que les deux autres, la réponse sécrétoire. Et cependant, aux doses auxquelles les produits ont été administrés, ils devraient entraîner le même effet s'il y avait proportionnalité entre activité antisécrétoire et anticholinergique. Cette « impression » se trouve confirmée par l'évaluation exacte des débits sécrétoires pour les trois heures qui suivent l'injection d'insuline et d'anticholinergiques.

Les tableaux 30, 31 et 32 font ressortir que l'inhibition exercée par le N-méthyl scopolammonium est supérieure à celle des deux autres produits; assez curieusement, le N-butyl scopolammonium qui diminue nettement le débit acide ne conduit pas à un résultat moyen statistiquement différent du résultat issu des expérimentations de contrôle. Ceci semble dû à la très grande fluctuation des résultats enregistrés au niveau de ce paramètre.

Il faut observer que l'étude du débit pepsinique (tableau 32) fournit les résultats les plus proches pour les trois produits: l'étude statistique (tableaux 33 et 34) montre que les activités antisécrétoires ne sont pas significativement différentes si l'on considère l'inhibition de la sécrétion pepsinique, alors que l'activité du N-butyl scopolammonium est différente de celle des deux autres substances si l'on étudie l'inhibition du débit acide.

Hirschowitz (1966) pense que la sécrétion pepsinique est un index plus fiable de la stimulation vagale, chez le Chien, que ne l'est la sécrétion acide, perturbée par l'insuline elle-même. Ainsi, les trois substances exerceraient finalement, dans ces conditions expérimentales, une activité antisécrétoire d'intensité proportionnelle à l'activité anticholinergique.

La comparaison des résultats enregistrés ici avec ceux de travaux antérieurs peut difficilement être faite, les conditions expérimentales variant énormément selon les auteurs. Tout au plus, pourrait-on rapprocher les résultats concernant l'atropine à ceux qui furent obtenus, dans des conditions différentes, par Lieber (1957) et Hirschowitz & Sachs (1969). Le premier, en utilisant une dose comparable à celle qui fut injectée aux chiens FD₃, FD₄ et FD₅ (12,5 $\mu\text{g/kg}$ au lieu de 10 $\mu\text{g/kg}$), mais en utilisant la voie intramusculaire (et non pas la voie intraveineuse) note une inhibition de la réponse sécrétoire

FIGURES 35, 36 et 37

Détermination comparative de la cinétique d'activité antisécrétoire de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums, chez le Chien à fistulisation gastrique subissant une stimulation insulinique

C : courbe d'évolution de la moyenne des expérimentations de contrôle réalisées avec l'insuline seule (0,3 U/kg I.V. rapide).

A : injection intraveineuse d'atropine (sulfate) au temps 0, à la dose de 10 $\mu\text{g/kg}$.

MS : injection intraveineuse de méthyl scopolammonium (méthyl-sulfate) au temps 0, à la dose de 2,5 $\mu\text{g/kg}$.

BS : injection intraveineuse de butyl scopolammonium (bromure) au temps 0, à la dose de 250 $\mu\text{g/kg}$.

Quatre expérimentations dans chaque cas, pour chacun des trois chiens.

FIGURE 35



FIGURE 36

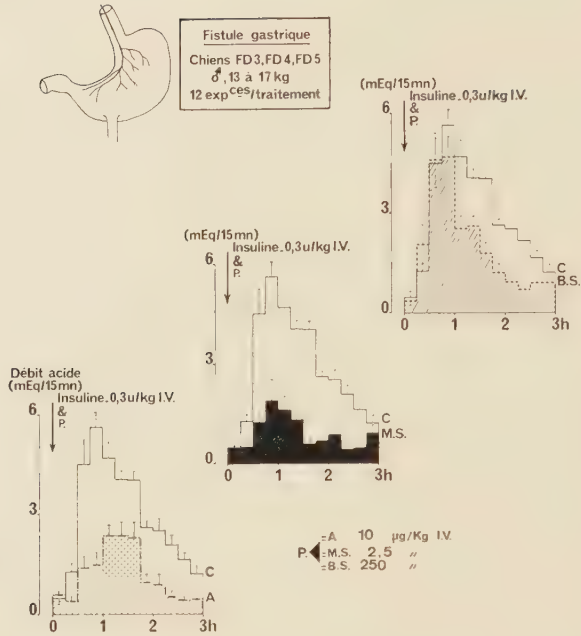
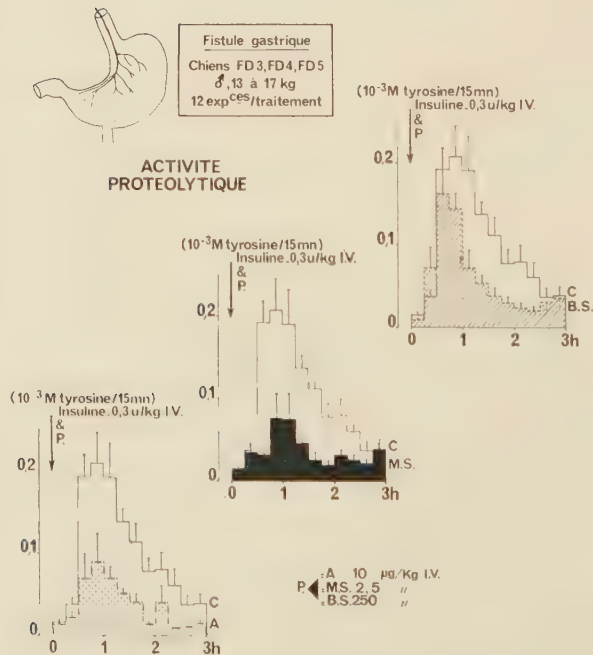


FIGURE 37



acide d'environ 35 p. 100. Compte tenu des différences qui viennent d'être évoquées, ce résultat n'est pas « incompatible » avec les 62 p. 100 d'inhibition reportés sur le tableau 31).

TABEAU 30

Action de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums sur le débit sécrétoire total (ml/3 heures) de chiens à fistulisation gastrique permanente, et subissant une stimulation insulinique.

N° du chien	N° expérience	Débit sécrétoire volumique (ml/3 h)			
		Insuline seule (1)	Insuline + atropine (2)	Insuline + N-méthyl scopolammonium (3)	Insuline + N-butyl scopolammonium (4)
FD ₃	1	296	168	39	116
	2	217	96	24	190
	3	137	22	4	179
	4	370	188	130	167
FD ₄	1	294	122	153	77
	2	200	109	75	302
	3	267	247	174	171
	4	291	82	105	289
FD ₅	1	259	118	52,5	162
	2	252	131	142	208
	3	281	89	39	124
	4	260	128	76	171
Moyenne générale ± erreur standard		260 ± 16,7	125** ± 16,4	84** ± 16,0	180* ± 18,7
% d'inhibition par rapport au groupe témoin			↓ 52 %	↓ 68 %	↓ 31 %

(1) Stimulation insulinique : 0,3 U/kg, injection rapide par voie intraveineuse au début de l'expérimentation.

Les anticholinergiques sont injectés rapidement par voie intraveineuse, en une seule fois, aussitôt après l'injection d'insuline, aux doses de :

(2) atropine (sulfate) : 10 µg/kg;

(3) N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 2,5 µg/kg;

(4) N-butyl scopolammonium (bromure) : 250 µg/kg.

*, ** Moyennes témoins/traités significativement ($P < 0,05$), ou très significativement ($P < 0,01$) différentes entre elles.

TABLEAU 31

Action de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums sur le débit acide total de chiens à fistulisation gastrique permanente, et subissant une stimulation insulínique.

N° du chien	N° expérience	Débit acide (mEq/3 h) (5)			
		Insuline seule (1)	Insuline + atropine (2)	Insuline + N-méthyl scopolammonium (3)	Insuline + N-butyl scopolammonium (4)
FD _s	1	41,70	20,39	4,24	16,50
	2	26,47	9,56	2,86	19,95
	3	19,95	0,57	0,17	23,88
	4	48,51	25,74	15,49	19,97
FD ₄	1	41,85	18,35	20,45	7,13
	2	22,54	12,84	7,96	49,85
	3	42,91	13,87	29,00	21,23
	4	33,25	8,06	12,45	43,41
FD ₆	1	33,86	14,00	6,43	19,96
	2	34,97	13,30	18,10	29,40
	3	40,36	12,60	6,50	17,40
	4	38,04	13,90	7,80	19,30
Moyenne générale ± erreur standard		35,30 ± 2,51	13,60** ± 1,81	10,90** ± 2,42	24,00 ± 3,41 NS ≠
% d'inhibition par rapport au groupe témoin			↓ 62 %	↓ 69 %	—

(1) Stimulation insulínique : 0,3 U/kg, injection rapide par voie intraveineuse au début de l'expérimentation.

Les anticholinergiques sont injectés rapidement par voie intraveineuse, en une seule fois, aussitôt après l'injection d'insuline, aux doses de :

(2) atropine (sulfate) : 10 µg/kg;

(3) N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 2,5 µg/kg;

(4) N-butyl scopolammonium (bromure) : 250 µg/kg.

(5) Débit d'acidité totale, dosée à pH 8,5, au virage de la phénolphtaléine.

NS ≠, ** Moyennes témoins/traités non significativement ($P > 0,05$) ou très significativement ($P < 0,01$) différentes entre elles.

TABLEAU 32

Action de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums sur le débit pepsinique total de chiens à fistulisation gastrique permanente, et subissant une stimulation insulinique.

N° du chien	N° expé- rience	Débit pepsinique (activité protéolytique/3 h) (5)			
		Insuline seule (1)	Insuline + atropine (2)	Insuline + N-méthyl scopol- ammonium (3)	Insuline + N-butyl scopol- ammonium (4)
FD ₃	1	527	224	158	577
	2	936	270	101	312
	3	749	62	96	520
	4	1239	415	325	507
FD ₄	1	1159	1367	1055	401
	2	1119	421	215	1818
	3	3123	795	1462	680
	4	1476	291	445	1188
FD ₅	1	866	722	835	953
	2	1467	267	180	468
	3	965	95	76	300
	4	773	341	275	676
Moyenne générale ± erreur standard		1200 ± 143	439** ± 105	435** ± 128	700* ± 125
% d'inhibition par rapport au groupe témoin			↓ 63 %	↓ 64 %	↓ 42 %

(1) Stimulation insulinique : 0,3 U/kg, injection rapide par voie intraveineuse au début de l'expérimentation.

Les anticholinergiques sont injectés rapidement par voie intraveineuse, en une seule fois, aussitôt après l'injection d'insuline, aux doses de :

(2) atropine (sulfate) : 10 µg/kg;

(3) N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 2,5 µg/kg;

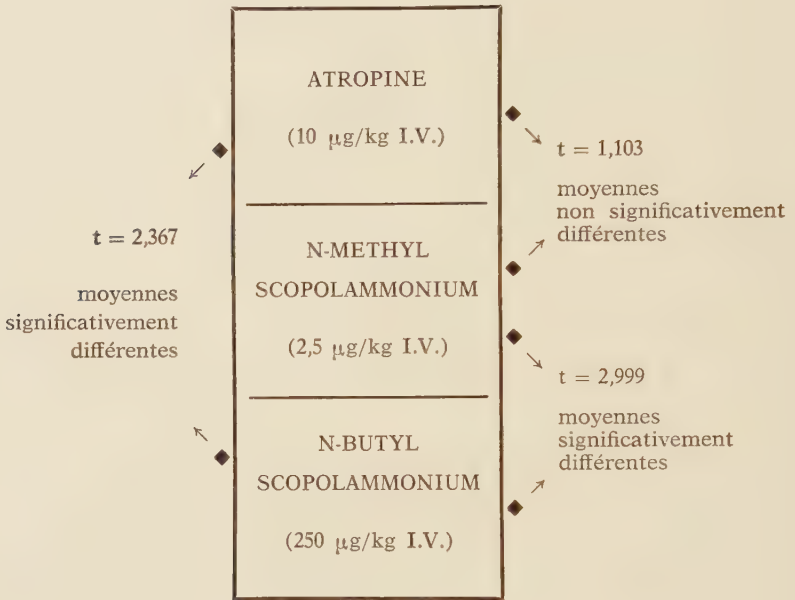
(4) N-butyl scopolammonium (bromure) : 250 µg/kg.

(5) Activité protéolytique du suc gastrique recueilli en trois heures, exprimée en micro-moles de tyrosine libérée (par minute) par hydrolyse d'un substrat de caséine.

*, ** Moyennes témoins/traités significativement ($P < 0,05$), ou très significativement ($P < 0,01$) différentes entre elles.

TABLEAU 33

Significativité de la différence d'activité antisécrétoire (débit acide) chez le Chien après traitement par les trois substances anticholinergiques.



Durée d'étude : 180 mn.

Intervalle considéré : 0 à 180.

Conditions expérimentales : chiens à fistule chronique; stimulation par l'insuline (injection I.V. rapide de 0,3 U/kg).

Pour leur part, Hirschowitz & Sachs (1969), en injectant par voie intramusculaire 80 $\mu\text{g/kg}$ d'atropine, inhibent de façon complète et prolongée la réponse sécrétoire à une stimulation insulinaire. Le rapport généralement observé des doses d'une même substance manifestant une équivalence après injection par voie intraveineuse et intramusculaire est de 1 à 4 ou 5. Ainsi, l'équivalent d'une dose de 80 $\mu\text{g/kg}$ administrée par voie intramusculaire peut être évalué à 20 $\mu\text{g/kg}$ injectés par voie intraveineuse. Peut-on penser qu'à une dose double de celle que nous avons utilisée l'inhibition observée aurait été totale ou même subtotale? Une expérimentation complémentaire a été entreprise, chacune des trois substances parasympatholytiques étant administrée à une dose double de celle qui fut choisie pour la séquence précédente. Les nouveaux résultats sont reportés sur la figure 38 et le tableau 35. En fait, il apparaît que les intensités d'inhibition se trouvent être peu modifiées, et l'on doit conclure que les résultats que nous avons observés avec l'atropine paraissent inférieurs à ceux de Hirschowitz & Sachs.

TABLEAU 34

*Significativité de la différence d'activité antisécrétoire
(débit pepsinique) chez le Chien après traitement
par les trois substances anticholinergiques.*

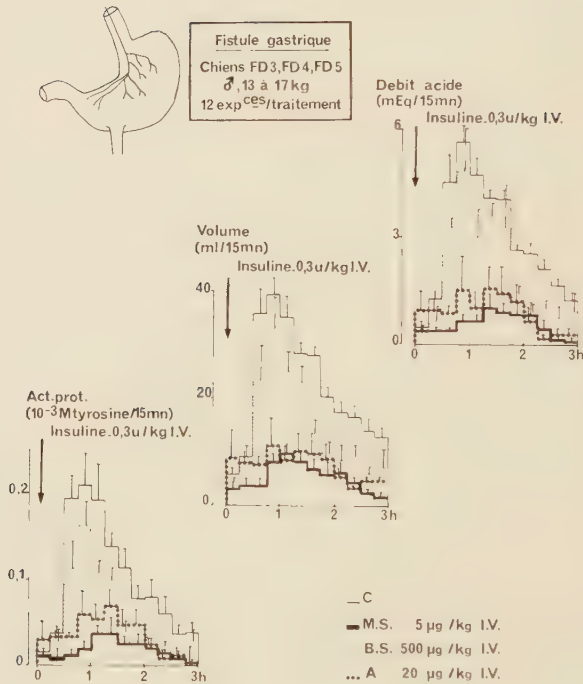
$t = 1,607$ moyennes non significativement différentes	ATROPINE (10 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	$t = 0,055$ moyennes non significativement différentes
	N-METHYL SCOPOLAMMONIUM (2,5 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	$t = 1,509$ moyennes non significativement différentes
	N-BUTYL SCOPOLAMMONIUM (250 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	

Durée d'étude : 180 mn.

Intervalle considéré : 0 à 180.

Conditions expérimentales : chiens à fistule chronique; stimulation par l'insuline (injection I.V. rapide de 0,3 U/kg).

FIGURE 38



Réponse sécrétoire moyenne des chiens FD₃, FD₄ et FD₅ à une stimulation insulinique (0,3 U/kg) et une inhibition simultanée provoquée par une injection d'atropine (20 μ g/kg), de N-méthyl scopolammonium (5 μ g/kg) ou de N-butyl scopolammonium (500 μ g/kg), par voie intraveineuse.

C : débits sécrétoires moyens des expérimentations de contrôle (injection d'insuline seule).

A, M.S. et B.S. : débits sécrétoires moyens consécutifs à l'administration d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammonium.

TABLEAU 35

Activités antisécrétoires comparées de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums, administrés par voie intraveineuse chez le Chien.

Traitement	Débit sécrétoire					
	Volume (ml/3 h)		Acide (mEq/3 h)		Pepsine (μ Moles tyrosine/3 h)	
<i>Contrôle</i> (insuline seule; 0,3 U./kg I.V.)	260 $\pm$ 16,0		35,3 $\pm$ 2,5		1200 $\pm$ 143	
Insuline + Atropine (20 μ g/kg I.V.)	88 $\pm$ 19,2	↓ 66 %	13,3 $\pm$ 3,9	↓ 61 %	454 $\pm$ 125	↓ 65 %
Insuline + N-méthyl scopolammonium (5 μ g/kg I.V.)	62 $\pm$ 11,2	↓ 76 %	6,4 $\pm$ 1,5	↓ 81 %	239 $\pm$ 53,5	↓ 80 %
Insuline + N-butyl scopolammonium (500 μ g/kg I.V.)	171 $\pm$ 15,0	↓ 34 %	23,8 $\pm$ 2,8	↓ 31 %	723 $\pm$ 107	↓ 40 %

— Chiens FD₃, FD₄, FD₅.

— Montage permanent : fistulisation gastrique.

— Stimulation : injection intraveineuse d'insuline.

— Administration intraveineuse des produits, au moment de la stimulation insulinique, et à des doses équivalentes *in vitro*.

— Quatre expérimentations par animal pour chaque traitement.

III.B.₃ — INHIBITION DE LA RÉPONSE SÉCRÉTOIRE DU CHIEN
(PORTEUR D'UNE FISTULISATION GASTRIQUE PERMANENTE),
CONSÉCUTIVE A UNE STIMULATION PAR LE 2-DDG.

Injectés rapidement par voie intraveineuse au début de la perfusion de 2-déoxy-D-glucose, l'atropine et les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums ont entraîné les réponses sécrétoires qui constituent les figures 39, 40 et 41. Les doses retenues pour cette expérimentation sont exactement les mêmes que celles qui furent utilisées pour la recherche d'une inhibition de la stimulation insulinique (première séquence), c'est-à-dire 10 $\mu\text{g/kg}$; 2,5 $\mu\text{g/kg}$ et 250 $\mu\text{g/kg}$, respectivement.

L'examen des courbes représentant les variations des différents paramètres enregistrés (volume, débit acide et débit pepsinique) pendant les quatre heures qui suivent l'injection des substances anticholinergiques conduit à plusieurs remarques :

1) Les erreurs standards attribuées à chaque moyenne sont souvent très importantes; la faiblesse de la population de résultats (huit expérimentations, au total, par traitement) ainsi que les fluctuations importantes des réponses au 2-DDG, déjà signalées par Mignon & al. (1971), sont responsables de ces dispersions.

2) Les durées de l'inhibition exercée par chacun des dérivés de la scopolamine semblent supérieures à la durée d'action de l'atropine, si l'on considère les débits volumiques (figure 39) ou les débits acides (figure 40).

3) Pour les trois substances, toute activité inhibitrice semble cesser deux à trois heures après leur injection, si l'on considère le débit pepsinique (figure 40).

Ces observations doivent être précisées par les mesures exactes des débits et la recherche de différences statistiquement significatives entre les moyennes. Les comparaisons statistiques font ressortir que tous les débits moyens d'un lot ayant reçu un traitement, quel qu'il soit, ne sont jamais significativement différents, à partir de la troisième heure de recueil, des débits moyens correspondants, du lot de contrôle. Les comparaisons des débits globaux qui vont suivre ne concerneront donc au plus, que les trois premières heures de l'expérimentation.

Comme les cinétiques d'action des trois antisécrétoires paraissent différentes (figures 39, 40 et 41), l'étude comparative de l'intensité de leur action a été effectuée en deux temps : détermination de l'inhibition exercée pendant les 90 minutes qui suivent l'injection des substances, puis détermination de cette inhibition en considérant le débit global pour les trois premières heures de l'expérience. Les résultats sont rassemblés sur les tableaux 36 à 39 pour ce qui concerne la première étude, sur les tableaux 40 à 43 pour ce qui concerne le débit global (180 minutes). A chaque fois, si les débits acides sont inhibés dans les mêmes proportions avec les trois produits, l'inhibition du débit pepsinique entraînée par le N-butyl scopolammonium est statistiquement différente de celle qu'exerce l'atropine ou le N-méthyl scopolammonium. Il est assez curieux de noter que ces résultats sont opposés à ceux qui furent enregistrés lors de la stimulation insulinique, mais ils doivent être interprétés avec la plus grande prudence étant donné la faiblesse de l'effectif soumis à cette expérimentation.

FIGURES 39, 40 et 41

Débits sécrétoires moyens des chiens FD₃ et FD₄ consécutifs à la perfusion lente de 2-DDG par voie intraveineuse (133 mg/kg en quatre heures) et à l'injection rapide d'atropine (10 µg/kg), de N-méthyl scopolammonium (2,5 µg/kg) ou de N-butyl scopolammonium (250 µg/kg) par la même voie, dès le début de la perfusion de 2-DDG.

A = atropine.

M.S. = méthyl scopolammonium.

B.S. = butyl scopolammonium.

FIGURE 39

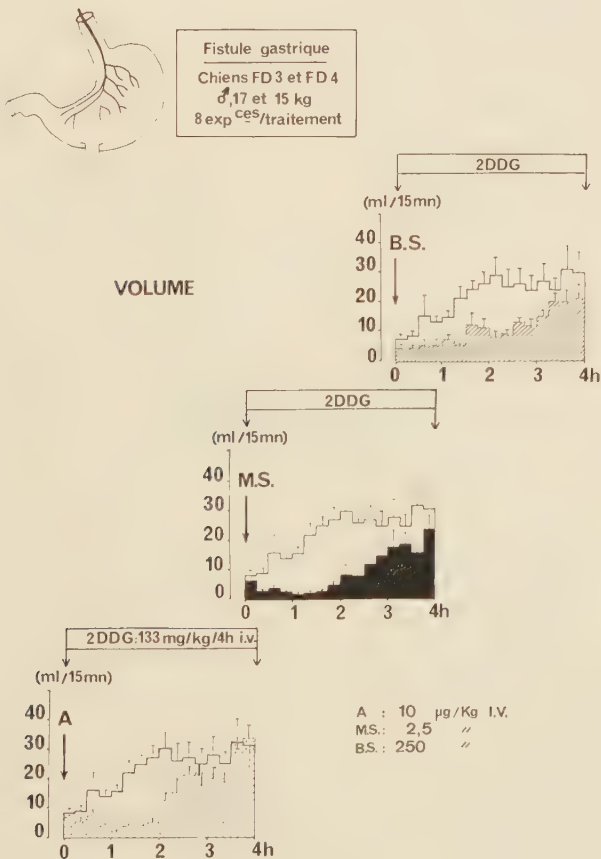


FIGURE 40

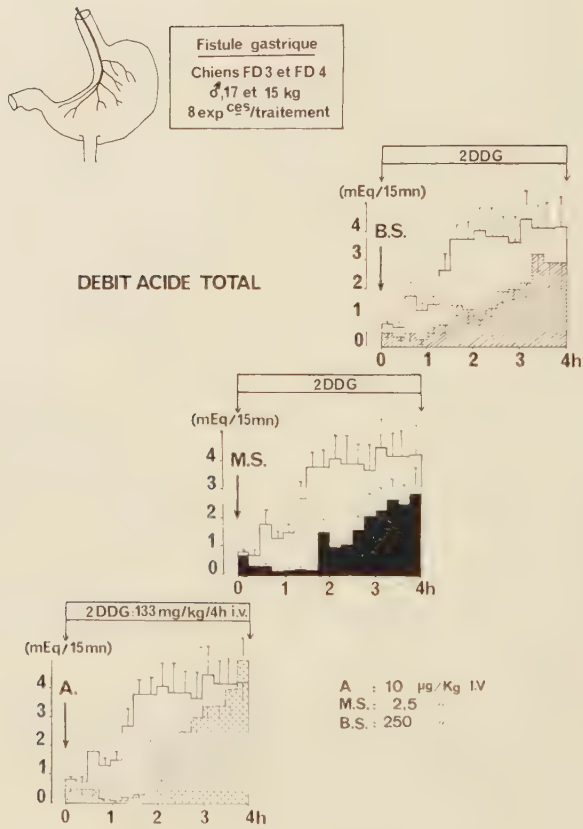


FIGURE 41

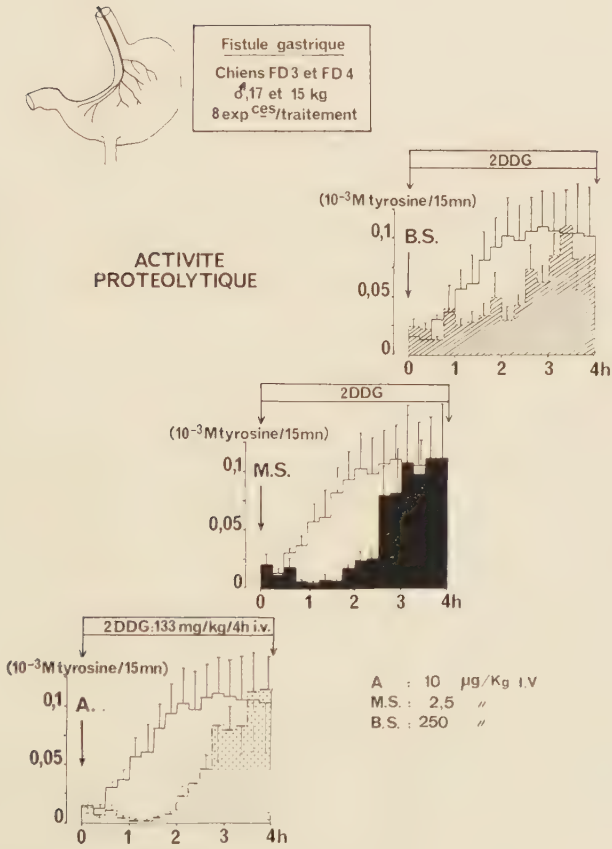


TABLEAU 36

Action de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums sur le débit acide total de chiens à fistulisation gastrique permanente, et subissant une stimulation au 2 DDG.

Intervalle considéré : 0 à 90 mn.

N° du chien	N° expé- rience	Débit acide (mEq/90 mn)			
		2 DDG seul	2 DDG +atropine	2 DDG +N-méthyl scopol- ammonium	2 DDG +N-butyl- scopol- ammonium
FD ₃	1	12,8	3,4	1,4	2,6
	2	8,3	4,0	2,5	1,4
	3	5,5	3,1	0,5	3,2
	4	6,0	0,9	1,6	2,7
FD ₄	1	8,2	0,8	3,3	1,8
	2	6,6	2,3	2,1	3,1
	3	7,9	1,7	1,7	6,9
	4	14,6	0,7	1,1	3,9
Moyenne générale ± erreur standard		8,74 ± 1,15	2,09** ± 0,45	1,77** ± 0,31	3,20** ± 0,59
% d'inhibition par rapport au groupe témoin (2 DDG seul)			↓ 76 %	↓ 80 %	↓ 63 %

** Moyennes très significativement différentes ($P < 0,01$).

Atropine (sulfate) : 10 µg/kg I.V.

N-Méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 2,5 µg/kg I.V.

N-Butyl scopolammonium (bromure) : 250 µg/kg I.V.

TABLEAU 37

Significativité de la différence d'activité antisécrétoire (débit acide) chez le Chien après traitement par les trois substances anticholinergiques.

$t = 1,285$ moyennes non significativement différentes	ATROPINE (10 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	$t = 0,579$ moyennes non significativement différentes
	N-METHYL SCOPOLAMMONIUM (2,5 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	$t = 1,855$ moyennes non significativement différentes
	N-BUTYL SCOPOLAMMONIUM (250 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	

Intervalle considéré : 0 à 90 mn.

Conditions expérimentales : chiens à fistule chronique : stimulation par 2 DDG (perfusion I.V.).

TABLEAU 38

Action de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums sur le débit pepsinique total des chiens à fistulisation gastrique permanente, et subissant une stimulation au 2 DDG.

Intervalle considéré : 0 à 90 mn.

N° du chien	N° expérience	Débit pepsinique (activité protéolytique/90 mn)			
		2 DDG seul	2 DDG + atropine	2 DDG + N-méthyl scopolammonium	2 DDG N-butyl scopolammonium
FD ₃	1	52	40,3	0,8	93
	2	123	33,6	31,4	167
	3	110	87,5	47	112
	4	143	0	80	103
FD ₄	1	488	28	42,5	120
	2	248	78	131	114
	3	274	32	81,7	238
	4	248		101	245
Moyenne générale ± erreur standard		210,8 ± 11,44	42,7* ± 11,44	65,17** ± 14,22	149,0** ± 21,61
% d'inhibition par rapport au groupe témoin (2 DDG seul)			↓ 80 %	↓ 69 %	↓ 20 %

*, ** Moyennes témoins/traités significativement ($P < 0,05$), ou très significativement ($P < 0,01$) différentes entre elles.

Atropine (sulfate) : 10 µg/kg I.V.

N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 2,5 µg/kg I.V.

N-Butyl scopolammonium (bromure) : 250 µg/kg I.V.

TABLEAU 39

*Significativité de la différence d'activité antisécrétoire
(débit pepsinique) chez le Chien après traitement
par les trois substances anticholinergiques.*

Intervalle considéré : 0 à 90 mn.

*Conditions expérimentales : chiens à fistule chronique : stimulation par
2 DDG (perfusion I.V.).*

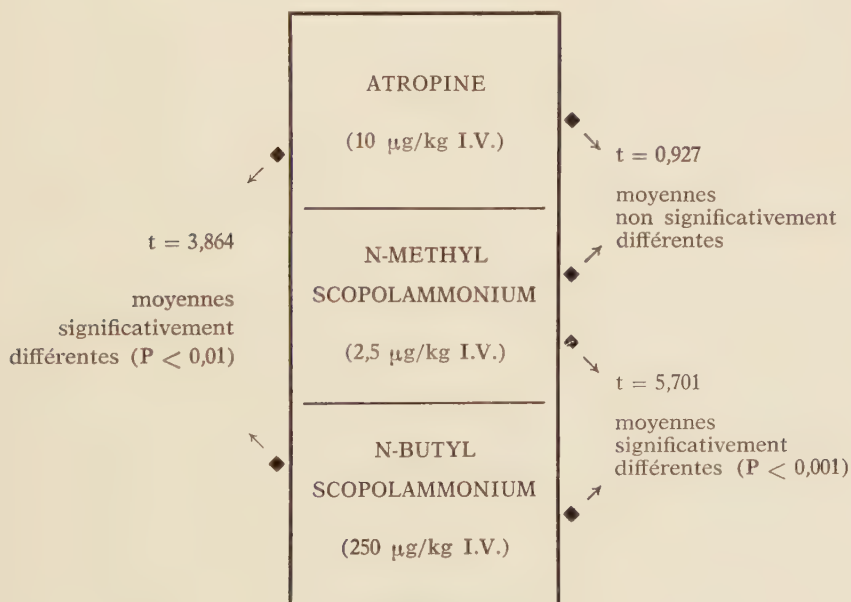


TABLEAU 40

Action de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums sur le débit acide total de chiens à fistulisation gastrique permanente, et subissant une stimulation au 2 DDG.

Intervalle considéré : 0 à 180 mn.

N° du chien	N° expé- rience	Débit acide (mEq/90 mn)			
		2 DDG seul	2 DDG +atropine	2 DDG +N-méthyl scopol- ammonium	2 DDG N-butyl scopol- ammonium
FD ₃	1	35,9	28,8	2	11,3
	2	18,8	9,2	5,1	7,5
	3	21,4	5,7	5,8	12,8
	4	24,2	9,7	8,5	11
FD ₄	1	47,5	10,2	8,1	3,7
	2	45,4	10,8	6,4	11,9
	3	19	21,4	17,1	25,2
	4	39,4	5,5	2	14,9
Moyenne générale ± erreur standard		31,45 ± 4,23	12,66** ± 2,89	6,88** ± 1,69	12,29* ± 2,21
% d'inhibition par rapport au groupe témoin (2 DDG seul)			↓ 60 %	↓ 78 %	↓ 61 %

*, ** Moyennes témoins/traités significativement ($P < 0,05$), ou très significativement ($P < 0,01$) différentes entre elles.

Atropine (sulfate): 10 µg/kg I.V.

N-Méthyl scopolammonium (méthyl sulfate): 2,5 µg/kg I.V.

N-Butyl scopolammonium (bromure): 250 µg/kg I.V.

TABLEAU 41

*Significativité de la différence d'activité antisécrétoire
(débit acide) chez le Chien après traitement
par les trois substances anticholinergiques.*

Intervalle considéré : 0 à 180 mn.

*Conditions expérimentales : chiens à fistule chronique; stimulation par
2 DDG (perfusion I.V.).*

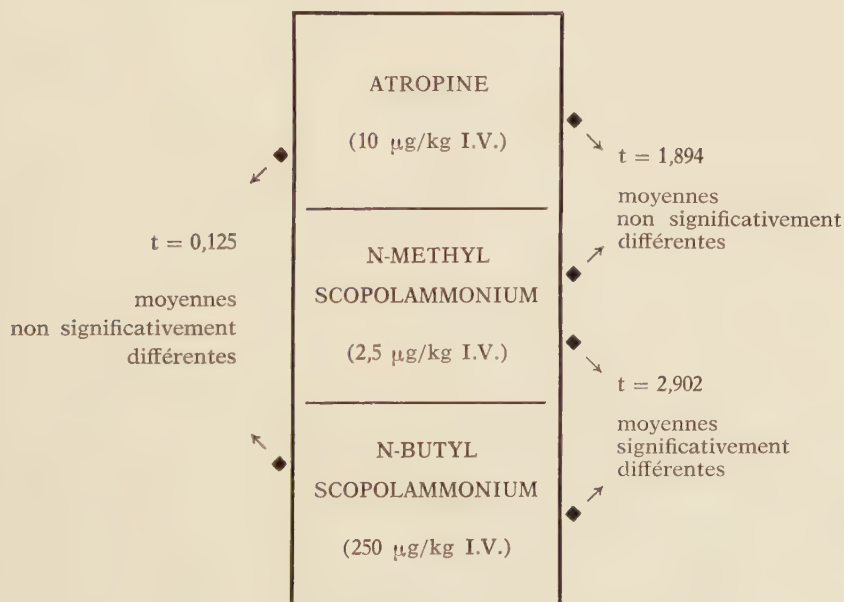


TABLEAU 42

Action de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums sur le débit pepsinique total de chiens à fistulisation gastrique permanente, et subissant une stimulation au 2 DDG.

Intervalle considéré : 0 à 180 mn.

N° du chien	N° expé- rience	Débit pepsinique (activité protéolytique/180 mn)			
		2 DDG seul	2 DDG +atropine	2 DDG +N-méthyl scopol- ammonium	2 DDG N-butyl scopol- ammonium
FD ₃	1	159	218	0,8	243
	2	265	79	65,3	347
	3	489	114	163,9	295
	4	331	71	127	273
FD ₄	1	1720	256	287	160
	2	1478	256	464	560
	3	870	451	680	852
	4	1075		699	822
Moyenne générale ± erreur standard		798,4 ±207,04	206,4* ±50,71	310,9* ±96,62	444,0 ±94,94
% d'inhibition par rapport au groupe témoin (2 DDG seul)			↓ 74 %	↓ 61 %	NS ≠

NS ≠, * Moyennes témoins/traités non significativement ($P > 0,05$) ou significativement ($P < 0,05$) différentes entre elles.

Atropine (sulfate): 10 µg/kg I.V.

N-Méthyl scopolammonium (méthyl sulfate): 2,5 µg/kg I.V.

N-Butyl scopolammonium (bromure): 250 µg/kg I.V.

TABEAU 43

*Significativité de la différence d'activité antisécrétoire
(débit pepsinique) chez le Chien après traitement
par les trois substances anticholinergiques.*

Intervalle considéré : 0 à 180 mn.

*Conditions expérimentales : chiens à fistule chronique; stimulation par
2 DDG (perfusion I.V.).*

$t = 2,902$ moyennes significativement différentes ($P < 0,02$)	ATROPINE (10 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	$t = 0,871$ moyennes non significativement différentes
	N-METHYL SCOPOLAMMONIUM (2,5 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	$t = 3,077$ moyennes significativement différentes ($P < 0,01$)
	N-BUTYL SCOPOLAMMONIUM (250 $\mu\text{g/kg}$ I.V.)	

Ces résultats ne peuvent être rapprochés que de ceux de Limbosch (1972) qui note une interruption quasi-immédiate de la réponse sécrétoire d'une poche de Pavlov, chez le Chien, à la suite d'injection par voie intraveineuse d'atropine, simultanément à l'injection lente de 2-DDG par la même voie, à la dose de 100 mg/kg. Cette abolition totale des sécrétions acide et pepsinique se prolonge souvent au-delà de 180 minutes. L'auteur utilise une dose d'atropine dix fois plus élevée que celle qui a été retenue pour les présentes expérimentations, et l'on peut considérer que l'inhibition de 60 à 80 p. 100 des débits sécrétoires que nous observons est compatible avec l'inhibition totale enregistrée par Limbosch.

En conclusion de cette évaluation des activités inhibitrices relatives de l'atropine, des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums sur la réponse sécrétoire du rat ou du chien à une stimulation vagale, il ressort que *le choix du modèle expérimental retentit de façon primordiale sur le résultat enregistré.*

— Dans le cas où l'expérimentateur administre les substances à des rats porteurs d'une fistule gastrique permanente et soumis à une stimulation insulinique, il semble que *l'échelle des doses d'équi-activité anticholinergique établie in vitro (1/4/100) se trouve légèrement modifiée* par le fait d'une activité antisécrétoire relative du N-butyl scopolammonium deux fois plus importante que ce que l'on pouvait attendre.

La nouvelle échelle des doses d'équi-activité antisécrétoire serait alors 1/4/50.

— Chez le chien subissant une stimulation insulinique, *l'activité antisécrétoire est proportionnelle à l'activité anticholinergique*, surtout si l'on s'en tient aux recommandations d'Hirschowitz (1966) préconisant l'utilisation du débit pepsinique pour une évaluation d'action antisécrétoire.

— Chez deux chiens soumis à une stimulation par perfusion lente de 2-DDG (voie intraveineuse), l'inhibition de la sécrétion acide est proportionnelle à l'activité anticholinergique. En ce qui concerne le débit pepsinique, il apparaît que le N-butyl scopolammonium n'a pas exercé d'inhibition significative à la dose employée, mais ce résultat peut être difficilement interprété eu égard à la faiblesse de l'effectif expérimental.

III.B.₄ — INHIBITION, CHEZ LE CHIEN, DE LA RÉPONSE SÉCRÉTOIRE DE LA POCHE DE HEIDENHAIN A LA STIMULATION DE LA POCHE ANTRALE ÉNERVÉE.

III.B.₄₋₁ — Stimulation de la zone antrale par une solution de glycine.

La récapitulation des diverses situations expérimentales observées, dans le cadre de la recherche de l'inhibition sécrétoire telle qu'elle se trouve précisée précédemment, a été effectuée sous forme d'un tableau (tableau 44). Les solutions d'anticholinergiques perfusées dans la poche antrale préalablement à la stimulation par la glycine ont des concentrations proportionnelles aux concentrations équivalentes *in vitro*. Elles ont été fixées à 20 mg/l, 80 mg/l et 2 000 mg/l pour, respectivement, le N-méthyl scopolammonium, l'atropine et le N-butyl scopolammonium.

Le groupe expérimental A comprend quatre chiens (AH_{2a}, AH_{2b}, AH₃ et AH₁₀). A titre d'exemple de réponse individuelle, les figures 42, 43, 44 et 45 montrent les évolutions des débits sécrétoires moyens (volume, débits d'acide libre et total, débit pepsinique), dans chacune des situations expérimentales, pour le chien AH_{2b}. Sur chaque figure, le graphique (a) concerne des résultats obtenus en absence de toute irrigation antrale par des solutions contenant l'un des anticholinergiques; les graphiques (b), (c) et (d) représentent les variations des débits sécrétoires lorsqu'une solution d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammonium se trouve perfusée dans la poche antrale au cours de l'heure qui précède sa stimulation par la solution de glycine.

TABLEAU 44

Récapitulation des diverses situations expérimentales réalisées avec le groupe de chiens A, porteurs d'une poche de Heidenhain (PH) et d'une poche antrale énervée (PA).

Stimulation basale de la sécrétion gastrique	Nos des recueils fractionnés (15 mn) au niveau de la pH	Traitement complémentaire éventuel	Types de situations expérimentales				
			A I	A II	A III	A IV	A V
Injections sous-cutanées de Carbachol (0,25 µg à 0,50 µg/kg selon les animaux) répétées toutes les 15 minutes.	1 à 8	Néant	—	—	—	—	—
	9 à 12	Perfusion d'un soluté dans la P.A.	Sol. NaCl 0,15 M		A	MS	BS
	13 à 16	Perfusion d'un soluté dans la P.A.	Sol. NaCl 0,15 M	Solution de glycine à 3 p. 100 dans NaCl 0,15 M			
	17 à 20	Néant	—	—	—	—	—

— Le groupe de chiens A comprend les animaux AH_{2a}, AH_{2b}, AH₃ et AH₁₀.

— Tous les animaux se sont trouvés dans chacune des situations expérimentales à quatre reprises, à l'exception de AH_{2a} qui a subi six fois chacun des types de traitement. Au total, chaque situation expérimentale a donc fait l'objet de 18 expérimentations.

— A : Atropine (sulfate) : 80 mg/l.

MS : N-Méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 20 mg/l.

BS : N-butyl scopolammonium (bromure) : 2 000 mg/l.

Variation des réponses sécrétoires de la poche de Heidenhain, chez le Chien AH_{2b}, après introduction d'anticholinergiques dans la poche antrale énercée préalablement à sa stimulation par la glycine

Légende :

P : parasympatholytique; G : glycine; S : solution de NaCl 0,154 M; M : solution de N-méthyl scopolammonium à 20 mg/l; A : solution d'atropine à 80 mg/l; B : solution de N-butyl scopolammonium à 2 000 mg/l; P.H. : poche de Heidenhain; P.A. poche antrale énercée.

Chaque courbe correspond au débit moyen calculé à partir de quatre expérimentations réalisées sur le chien AH_{2b}.

Courbes marquées « S » : débit moyen entretenu par les seules injections sous-cutanées de carbachol, répétées toutes les quinze minutes pendant cinq heures; une solution S est perfusée dans la poche antrale pendant les 3^e et 4^e heures d'expérimentation.

Courbes marquées « G » : débit moyen entretenu comme en « S », la perfusion dans la poche antrale étant, pendant la quatrième heure d'expérimentation, une solution à 3 p. 100 de glycine.

Courbes en pointillés : débit acide moyen entretenu comme en « S », la perfusion dans la poche antrale étant une solution tampon à pH 1,5 qui se poursuit du début à la fin de l'expérimentation.

FIGURE 42



FIGURE 43

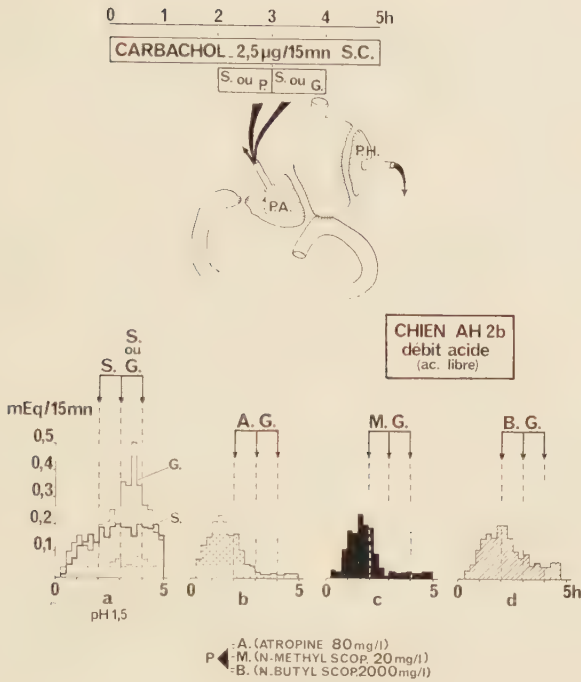


FIGURE 44

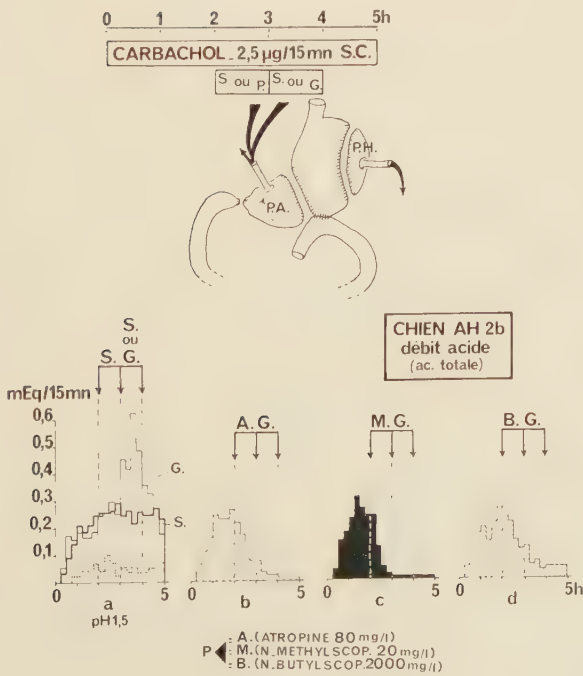
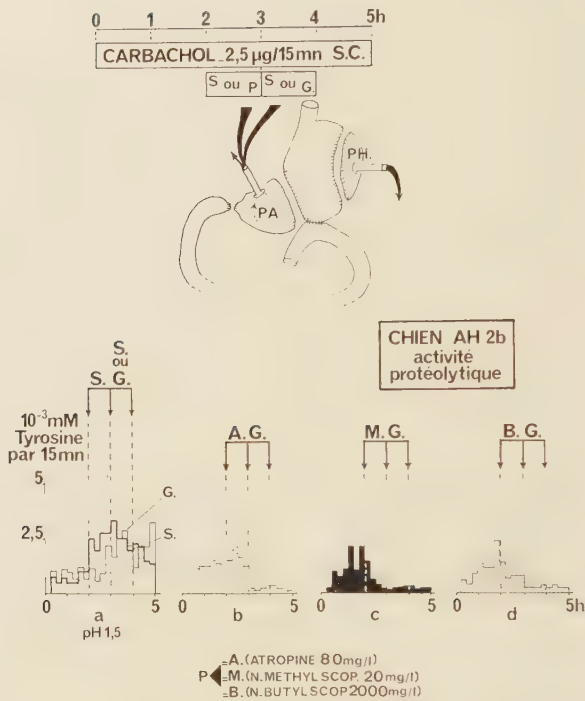


FIGURE 45



Il faut observer que, sur le plateau sécrétoire entretenu par le carbachol, l'irrigation de la poche antrale par une solution d'anticholinergique provoque toujours un décrochement rapide de la courbe représentant le débit sécrétoire; celui-ci ne sera pas relevé ensuite par la perfusion de glycine. Dans cette situation (séries A III, A IV et A V), le débit sécrétoire atteint, dès la fin de la troisième heure d'expérimentation, un niveau comparable à celui qui est enregistré lorsqu'une solution tampon à pH 1,5 se trouve perfusée dans la poche antrale pendant toute la durée des recueils. Ce niveau est représenté sur le graphique (a) de chacune des figures par un trait pointillé. Enfin, la figure 45 met en évidence la grande fluctuation du débit pepsinique qui ne semble pas être très sensible à la stimulation antrale, les courbes correspondant à une perfusion de solution de glycine ou de solution à 9 p. 1000 de NaCl restant constamment confondues.

La figure 46 représente les variations du débit acide moyen pour l'ensemble des 18 expérimentations réalisées avec les animaux du groupe A, selon ce protocole. L'inhibition de la réponse sécrétoire par le N-méthyl scopolammonium ou l'atropine est plus rapide et semble être plus intense que celle qui est exercée par le N-butyl scopolammonium.

L'étude statistique des résultats montre que les moyennes des débits horaires d'acide (tableau 45) ou celles des débits horaires pepsiniques (tableau 46) ne sont pas significativement différentes entre elles, quelles que soient les situations expérimentales, au cours

FIGURE 46

Variations, chez le Chien, de la réponse sécrétoire acide de la poche de Heidenhain, après introduction d'anticholinergiques dans la poche antrale énercée, préalablement à sa stimulation par la glycine

Légende :

P : parasympatholytiques; **G :** glycine; **mEq/15 mn :** débit acide exprimé en milli-équivalents d'ions H^+ sécrétés par fraction de 15 minutes; **S :** solution de NaCl 0,154 M; **M.S. :** solution de N-méthyl scopolammonium à 20 mg/l; **A :** solution d'atropine à 80 mg/l; **B.S. :** solution de N-butyl scopolammonium à 2 000 mg/l; **P.H. :** poche de Heidenhain; **P.A. :** poche antrale énercée.

Chaque courbe correspond au débit moyen calculé à partir de 18 expérimentations réalisées sur quatre chiens différents.

Courbes marquées « S » : débit acide moyen entretenu par les seules injections sous-cutanées de carbachol, répétées toutes les quinze minutes pendant cinq heures; une solution « S » est perfusée dans la poche antrale pendant les 3^e et 4^e heures d'expérimentation.

Courbes marquées « G » : débit acide moyen entretenu comme en « S », la perfusion dans la poche antrale pendant la quatrième heure d'expérimentation étant une solution à 3 p. 100 de glycine.

Courbes marquées « A + G », « M.S. + G » ou « B.S. + G » : débits acides moyens entretenus comme en « G », la solution « S » perfusée dans la poche antrale pendant la troisième heure d'expérimentation étant remplacée par une solution « A », « M.S. » ou « B.S. ».

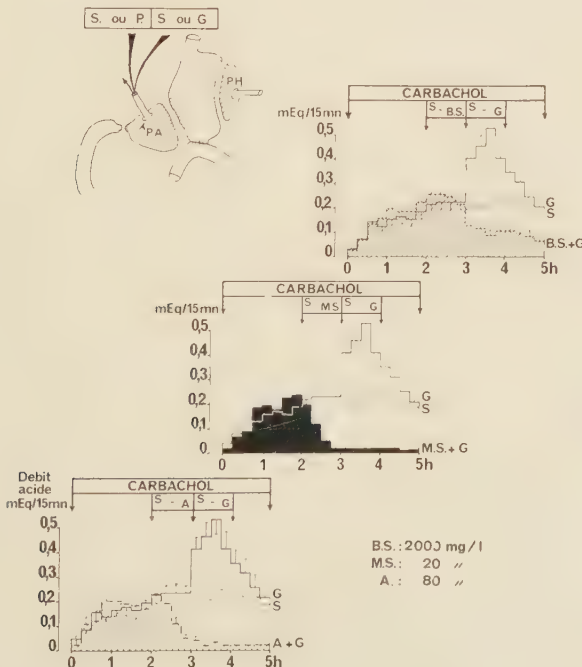


TABLEAU 45

Variations du débit sécrétoire acide (acidité totale) au niveau de la poche de Heidenhain des chiens du groupe A, selon la situation expérimentale.

Période expérimentale considérée		Débit horaire moyen (mEq/h) selon la situation expérimentale				
Horaire	N° des recueils correspondants	A I	A II	A III	A IV	A V
61 mn à 120 mn	5 à 8	0,74 ±0,077	0,71 ±0,098	0,71 ±0,097	0,79 ±0,089	0,76 ±0,069
		Comparaison des moyennes avec	A I	t=0,409	0,664	0,494
			A II	t=0,168	0,662	0,691
121 mn à 180 mn	9 à 12	0,88 ±0,076	1,04 ±0,096	0,59 ±0,039	0,41 ±0,055	0,92 ±0,074
		Comparaison des moyennes avec	A I	t=2,877 *	4,634 **	0,400
			A II	t=4,124 **	7,189 **	1,381
181 mn à 240 mn	13 à 16	0,89 ±0,058	1,80 ±0,157	0,10 ±0,024	0,08 ±0,027	0,43 ±0,061
		Comparaison des moyennes avec	A I	t=10,3 **	11,623 **	5,143 **
			A II	t=9,358 **	11,061 **	7,423 **
241 mn à 300 mn	17 à 20	0,91 ±0,073	1,12 ±0,145	0,09 ±0,027	0,06 ±0,022	0,37 ±0,073
		Comparaison des moyennes avec	A I	t=9,253 **	10,233 **	4,336 **
			A II	t=6,514 **	7,234 **	4,451 **

La valeur du t de Student-Fisher est suivie de :

* lorsque les moyennes sont *significativement* différentes ($P < 0,05$).

** lorsque les moyennes sont *très significativement* différentes ($P < 0,01$).

TABLEAU 46

Variations du débit sécrétoire pepsinique au niveau de la poche de Heidenhain des chiens du groupe A, selon la situation expérimentale.

Période expérimentale considérée		Débit horaire moyen (μ Moles tyrosine) selon la situation expérimentale				
Horaire	N° des recueils correspondants	A I	A II	A III	A IV	A V
61 mn à 120 mn	5 à 8	12,7 $\pm 3,35$	11,3 $\pm 3,38$	10,7 $\pm 4,60$	15,8 $\pm 4,70$	12,5 $\pm 5,42$
		Comparaison des moyennes avec	A I	t=0,589	0,610	0,493
			A II	t=0,106	1,146	0,165
121 mn à 180 mn	9 à 12	14,8 $\pm 1,61$	14,4 $\pm 5,31$	7,5 $\pm 1,83$	14,1 $\pm 5,97$	14,8 $\pm 6,3$
		Comparaison des moyennes avec	A I	t=2,677 *	0,118	0,114
			A II	t=1,281	0,049	0,149
181 mn à 240 mn	13 à 16	13,3 $\pm 1,40$	19,3 $\pm 5,32$	1,1 $\pm 0,46$	1,42 $\pm 0,81$	4,99 $\pm 2,26$
		Comparaison des moyennes avec	A I	t=9,856 **	9,439 **	3,008 *
			A II	t=3,375 **	3,390 **	2,796 *
241 mn à 300 mn	17 à 20	11,3 $\pm 1,42$	15,3 $\pm 4,17$	2,5 $\pm 1,55$	0,55 $\pm 0,23$	3,73 $\pm 1,71$
		Comparaison des moyennes avec	A I	t=4,511 **	7,461 **	3,034 *
			A II	t=3,232 **	3,574 **	2,736 "

La valeur du t de Student-Fisher est suivie de :

* lorsque les moyennes sont *significativement* différentes ($P < 0,05$).

** lorsque les moyennes sont *très significativement* différentes ($P < 0,01$).

de la deuxième heure d'expérimentation. Il a été démontré précédemment que la première heure de stimulation, par les seules injections sous-cutanées de carbachol correspondait à l'augmentation progressive de la réponse sécrétoire jusqu'à un plateau de stabilisation, lequel s'établit dans les soixante minutes, le plus souvent. Il est donc apparu plus judicieux de vérifier la comparabilité des niveaux de sécrétion moyens atteints dans les différentes situations expérimentales, juste avant que ne survienne l'introduction d'une substance dans la poche antrale. C'est pourquoi la comparaison des débits horaires moyens ne commence que pour la seconde heure de recueil.

Le tableau 45 fait apparaître que la perfusion dans la poche antrale d'une solution d'atropine et celle d'une solution de N-méthyl scopolammonium (situations expérimentales A III et A IV) entraînent aussitôt une diminution significative du débit acide de la poche de Heidenhain. Pendant la même période de recueil (121 mn à 180 mn), le N-butyl scopolammonium n'exerce aucune activité.

En revanche, la présence sur la muqueuse antrale des solutions d'anticholinergiques diminue de façon très significative la réponse sécrétoire normale de la poche de Heidenhain pendant l'heure suivante (181 mn à 240 mn); le débit horaire de celle-ci est alors statistiquement différent du débit correspondant enregistré dans la situation expérimentale A II (perfusion d'une solution de glycine dans la poche antrale), mais aussi du débit enregistré dans la situation expérimentale A I (plateau basal entretenu par les seules injections de carbachol).

Enfin, cette activité inhibitrice se prolonge encore pendant la dernière heure d'expérimentation, le débit de la poche de Heidenhain restant toujours, dans les situations expérimentales A III, A IV et A V, statistiquement inférieur à celui qui est enregistré dans les situations A I ou A II.

L'étude du débit pepsinique (tableau 46) conduit à peu près aux mêmes remarques; toutefois, l'effet inhibiteur sur le débit pepsinique paraît être d'apparition beaucoup plus tardive que l'inhibition enregistrée sur le débit acide: seule l'atropine entraîne une diminution significative du débit pepsinique dès la troisième heure de l'expérimentation.

A partir de la troisième heure d'expérimentation, les débits sécrétoires horaires moyens enregistrés après perfusion de N-butyl scopolammonium (A V) sont toujours statistiquement différents de ceux qui correspondent à une perfusion d'atropine (A III) ou de N-méthyl scopolammonium (A IV).

En tenant compte de la significativité de la différence entre les débits correspondants, pour chacune des situations expérimentales, l'activité inhibitrice manifestée par les trois traitements a été calculée sous forme de pourcentage de diminution du débit horaire (comme cela a été fait pour toutes les évaluations précédentes), comparativement au débit horaire enregistré dans la situation expérimentale A II.

Les tableaux 47 et 48 mettent en évidence un excellent parallélisme des potentialités inhibitrices exercées par l'atropine et le N-méthyl scopolammonium; les confrontations statistiques montrent que les différences des résultats moyens entre ces deux traitements ne sont pas significatives.

TABLEAU 47

Actions comparées de l'application antrale d'atropine, de N-méthyl ou N-butyl scopolammoniums sur la réponse sécrétoire acide de la poche de Heidenhain à une stimulation de l'antré énervee par une solution de glycine.

Période considérée		Situation expérimentale		Débit horaire moyen (mEq)	Action du produit (% d'inhibition par rapport à A II)
Horaire	N° des recueils	Type	Solution introduite dans la P.A.		
121 mn à 180 mn	9 à 12	A II	NaCl (0,15 M)	1,04	—
		A III	Atropine	0,59	↓ 41 %
		A IV	N-méthyl scopolammonium	0,41	↓ 61 %
		A V	N-butyl scopolammonium	0,92	Moyennes non significat. différentes
181 mn à 240 mn	13 à 16	A II	Solution de glycine à 3 p. 100 dans NaCl 0,15 M	1,80	—
		A III		0,10	↓ 94 %
		A IV		0,08	↓ 95 %
		A V		0,43	↓ 76 %
241 mn à 300 mn	17 à 20	A II	Néant	1,12	—
		A III		0,09	↓ 92 %
		A IV		0,06	↓ 94 %
		A V		0,37	↓ 67 %

Atropine (sulfate) : 80 mg/l.

N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 20 mg/l.

N-butyl scopolammonium (bromure) : 2 000 mg/l.

TABLEAU 48

Actions comparées de l'application antrale d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammoniums sur la réponse pepsinique de la poche de Heidenhain à une stimulation de l'antré énérvée par une solution de glycine.

Période considérée		Situation expérimentale		Débit horaire moyen (μ Moles tyrosine)	Action du produit (% d'inhibition par rapport à A II)
Horaire	N° des recueils	Type	Solution introduite dans la P.A.		
121 mn à 180 mn	9 à 12	A II	NaCl (0,15 M)	14,4	—
		A III	Atropine	7,52	NS $\neq$
		A IV	N-méthyl scopolammonium	14,1	NS $\neq$
		A V	N-butyl scopolammonium	14,8	NS $\neq$
181 mn à 240 mn	13 à 16	A II	Solution de glycine	19,3	—
		A III		1,08	↓ 94 %
		A IV		1,42	↓ 93 %
		A V		4,99	↓ 74 %
241 mn à 300 mn	17 à 20	A II	Néant	15,3	—
		A III		2,51	↓ 84 %
		A IV		0,55	↓ 96 %
		A V		3,73	↓ 76 %

Atropine (sulfate) : 80 mg/l.

N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 20 mg/l.

N-butyl scopolammonium (bromure) : 2 000 mg/l.

TABLEAU 49

Variations du débit sécrétoire acide (acidité totale) au niveau de la poche de Heidenhain des chiens du groupe A, après perfusion antrale de solutions d'atropine, de N-méthyl et de N-butyl scopolammoniums à des concentrations équivalentes in vitro.

Période expérimentale considérée		Débit horaire moyen (mEq/h) selon la situation expérimentale				
Horaire	N° des recueils	A Carbachol seul	B Carbachol +perfusion de glycine	C	D	E
61 mn	5 à 8	0,78 ± 0,100	0,71 ± 0,059	0,74 ± 0,120	0,67 ± 0,204	0,75 ± 0,114
à 120 mn		A Comparaison des moyennes avec		t=0,172	0,566	0,214
		B		t=0,192	0,728	0,219
121 mn	9 à 12	0,79 ± 0,192	0,75 ± 0,089	0,66 ± 0,017	0,34 ± 0,031	0,92 ± 0,216
à 180 mn		A Comparaison des moyennes avec		t=0,595	2,069 *	— 0,796
		B		t=1.159	5,846 **	0,634
181 mn	13 à 16	0,80 ± 0,141	1,31 ± 0,157	0,18 ± 0,056	0,10 ± 0,044	0,79 ± 0,134
à 240 mn		A Comparaison des moyennes avec		t=3,142 **	5,244 **	0,062
		B		t=7,768 **	7,573 **	2,613 *
241 mn	17 à 20	0,65 ± 0,070	0,76 ± 0,157	0,18 ± 0,044	0,07 ± 0,031	0,71 ± 0,122
à 300 mn		A Comparaison des moyennes avec		6,073 **	12,260 **	— 0,386
		B		2,875 *	3,638 **	0,367

C = perfusion antrale d'atropine, de la 121^e à la 180^e minute, à la concentration de 40 mg/l.

D = perfusion antrale de N-méthyl scopolammonium de la 121^e à la 180^e minute, à la concentration de 10 mg/l.

E = perfusion antrale de N-butyl scopolammonium de la 121^e à la 180^e minute, à la concentration de 1 000 mg/l.

TABLEAU 50

Actions comparées de l'application antrale d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammoniums sur la réponse sécrétoire acide (acidité totale) de la poche de Heidenhain à une stimulation de l'antré énérvée par une solution de glycine.

Période considérée		Situation expérimentale		Débit horaire moyen (mEq)	Action du produit (% d'inhibition par rapport à B)
Horaire	N° des recueils	Type	Solution introduite dans la P.A.		
121 mn à 180 mn	9 à 12	B	NaCl (0,5 M)	0,75	—
		C	Atropine	0,66	NS $\neq$
		D	N-méthyl scopolammonium	0,34	↓ 55 %
		E	N-butyl scopolammonium	0,92	NS $\neq$
181 mn à 240 mn	13 à 16	B	Solution de glycine	1,31	—
		C		0,18	↓ 86 %
		D		0,10	↓ 92 %
		E		0,79	↓ 40 %
241 mn à 300 mn	17 à 20	B	Néant	0,76	—
		C		0,18	↓ 76 %
		D		0,07	↓ 91 %
		E		0,71	NS $\neq$

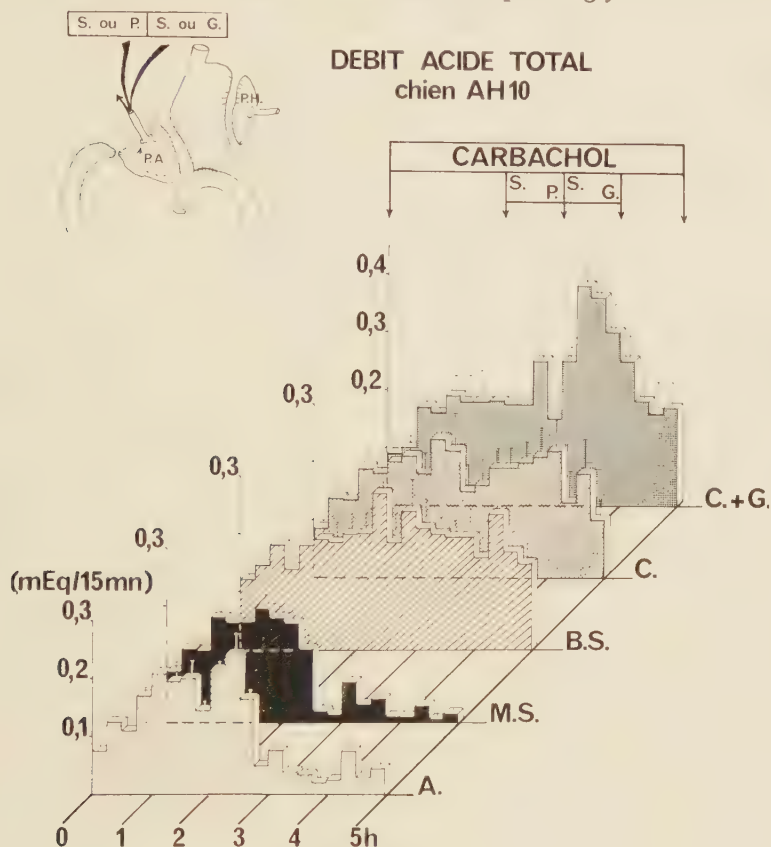
Atropine (sulfate) : 40 mg/l.

N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 10 mg/l.

N-butyl scopolammonium (bromure) : 1 000 mg/l.

FIGURE 47

*Variations du débit acide de la poche de Heidenhain
chez le Chien AH₁₀,
après introduction d'anticholinergiques dans la poche antrale énercée
préalablement à sa stimulation par la glycine*



Légende :

P : parasympatholytiques; G : glycine; S : solution de NaCl 0,154 M; mEq/15 mn : débit acide exprimé en milli-équivalents d'ions H⁺ sécrétés par fractions de 15 minutes.

Chaque courbe correspond au débit acide moyen calculé à partir de quatre expérimentations.

Courbe marquée « C » : débit acide moyen entretenu par les seules injections sous-cutanées de carbachol, répétées toutes les quinze minutes pendant cinq heures.

Courbes marquées « C + G » : débit acide moyen entretenu comme en « C », une perfusion de glycine à 3 p. 100 étant en outre réalisée pendant la quatrième heure d'expérimentation, dans la poche antrale.

Courbes marquées « A », « M.S. » ou « B.S. » : débits acides moyens entretenus comme en « C + G », une perfusion supplémentaire de la poche antrale étant réalisée pendant la troisième heure d'expérimentation par une solution :

- d'atropine à 40 mg/l (A);
- ou de N-méthyl scopolammonium à 10 mg/l (M.S.);
- ou de N-butyl scopolammonium à 1 000 mg/l (B.S.).

Ainsi, il semble que l'irrigation de la poche antrale par des solutions d'atropine, ou de N-méthyl scopolammonium — solutions à des concentrations proportionnelles aux concentrations entraînant une équi-activité anticholinergique in vitro — provoque une inhibition comparable de la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain à une stimulation de la poche antrale par la glycine. *Ce n'est pas le cas*, ainsi que nous l'avons indiqué ci-dessus, *pour le N-butyl scopolammonium*.

Une expérimentation de contrôle a été entreprise, les concentrations des solutions des trois substances restant toujours proportionnelles aux concentrations d'équi-activité anticholinergique, mais se trouvant toutes diminuées de moitié par rapport aux concentrations précédemment utilisées.

Les nouveaux résultats (et l'on s'en est tenu uniquement, dans ce cas, à l'évaluation du débit acide) ont permis la constitution de la figure 47 où une très nette différence d'action peut être constatée entre le N-butyl scopolammonium d'une part, l'atropine et le N-méthyl scopolammonium d'autre part. Si l'activité des deux derniers produits reste intense, celle du N-butyl scopolammonium paraît beaucoup plus modeste : le pic de la réponse sécrétoire consécutive à l'irrigation de la poche par une solution de glycine est bien écrêté, mais le débit sécrétoire n'est pas inférieur à celui qui est entretenu normalement par les injections de carbachol. D'ailleurs, la comparaison statistique des résultats numériques (tableau 49) confirme bien l'observation de la figure 47 : seuls l'atropine et le N-méthyl scopolammonium entraînent des débits sécrétoires acides, pour les 4^e et 5^e heures d'expérimentation, qui sont statistiquement différents de ceux des séries expérimentales de contrôle, A et B. Le N-butyl scopolammonium fait cependant disparaître le pic sécrétoire consécutif à l'irrigation de la poche antrale par une solution de glycine, puisque le débit acide de la série E est bien statistiquement différent du débit de la série B, pendant la quatrième heure d'expérimentation. L'intensité de l'action de chaque composé se trouve précisée par le tableau 50.

En conclusion, il apparaît que l'atropine et le N-méthyl scopolammonium d'une part, le N-butyl scopolammonium d'autre part, dans les conditions expérimentales observées, n'exercent pas d'équi-activité antisécrétoire pour des concentrations proportionnelles aux concentrations entraînant une équi-activité anticholinergique in vitro. On peut donc être amené à penser, soit que le N-butyl scopolammonium se révèle moins actif que ce que l'on pourrait attendre, soit que l'atropine et le N-méthyl scopolammonium sont finalement beaucoup plus antisécrétoires que ne le laissait supposer leur activité anticholinergique.

III.B.₄₋₂ — Stimulation de la zone antrale par une solution tampon à pH 9,2.

Pour ce qui concerne les résultats enregistrés dans le cas où la solution de glycine est remplacée par une solution tampon à pH 9,2, toutes conditions étant égales par ailleurs, la forme et l'ordre de présentation des tableaux et figures sont exactement les mêmes que pour le paragraphe précédent :

— Le tableau 51 rappelle les situations expérimentales observées; une numérotation (B I à B V) y est proposée pour repérer facilement chacune des situations expérimentales.

— Les figures 48 à 51 représentent, à titre d'exemple de réponses obtenues pour un sujet du groupe expérimental, les variations des réponses sécrétoires de la poche de Heidenhain, dans chacune de ces situations expérimentales, pour le chien AH_{2a}.

— La figure 52 rassemble les graphiques constitués à partir des moyennes des débits acides pour l'ensemble des animaux du groupe expérimental B (chiens AH₁, AH_{2a}, AH₅ et L).

— Les tableaux 52 et 53 regroupent les valeurs des débits sécrétoires horaires moyens et leurs erreurs standards, ainsi que les conclusions de l'appréciation statistique de la significativité des différences entre résultats obtenus en « présence » ou en « absence » de traitement (le traitement étant, en l'occurrence, l'irrigation de la poche antrale par l'une des solutions d'anticholinergiques).

— Sur les tableaux 54 et 55 se trouvent évaluées les activités anti-sécrétoires exercées dans ces conditions expérimentales, par chacune des substances.

TABLEAU 51

Récapitulation des diverses situations expérimentales réalisées avec le groupe de chiens B, porteurs d'une poche de Heidenhain (PH) et d'une poche antrale énercée (PA).

Stimulation basale de la sécrétion gastrique	N° des recueils fractionnés (15 mn) au niveau de la pH	Traitemement complémentaire éventuel	Types de situations expérimentales				
			B I	B II	B III	B IV	B V
Injections sous-cutanées de Carbachol (0,25 µg à 0,50 µg/kg selon les animaux) répétées toutes les 15 minutes.	1 à 8	Néant	—	—	—	—	—
	9 à 12	Perfusion d'un soluté dans la P.A.	Sol. NaCl 0,15 M		A	MS	BS
	13 à 16	Perfusion d'un soluté dans la P.A.	Sol. NaCl 0,15 M	Solution tampon à pH 9,2			
	17 à 20	Néant	—	—	—	—	—

— Le groupe de chiens B comprend les animaux AH₁, AH_{2a}, AH₅ et L.

— Tous les animaux se sont trouvés dans chacune des situations expérimentales à quatre reprises, à l'exception de AH_{2a} qui a subi six fois chacun des types de traitement. Au total, chaque situation expérimentale a donc fait l'objet de 18 expérimentations.

— A : Atropine (sulfate) : 80 mg/l.

MS : N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 20 mg/l.

BS : N-butyl scopolammonium (bromure) : 2 000 mg/l.

Variations des réponses sécrétoires de la poche de Heidenhain, chez le Chien AH_{2a}, après introduction d'anticholinergiques dans la poche antrale énercée, préalablement à sa stimulation par une solution à pH 9,2

Légende :

P : parasympatholytiques; pH9: solution tampon à pH 9,2; S: solution de NaCl 0,154 M; M: solution de N-méthyl scopalammonium à 20 mg/l; A: solution d'atropine à 80 mg/l; B: solution de N-butyl scopalammonium à 2000 mg/l; P.H.: poche de Heidenhain; P.A.: poche antrale énercée.

Chaque courbe correspond au débit moyen calculé à partir de six expérimentations réalisées sur le chien AH_{2a}.

Courbes marquées « S »: débit moyen entretenu par les seules injections sous-cutanées de carbachol, répétées toutes les quinze minutes pendant cinq heures; une solution S est perfusée dans la poche antrale pendant les 3^e et 4^e heures d'expérimentation.

Courbes marquées « pH 9 »: débit moyen entretenu comme en « S », la perfusion dans la poche antrale étant, pendant la quatrième heure d'expérimentation, une solution tampon à pH 9,2.

Courbes en pointillés: débit acide moyen entretenu comme en « S », la perfusion dans la poche antrale étant une solution tampon à pH 1,5 qui se poursuit du début à la fin de l'expérimentation.

FIGURE 48

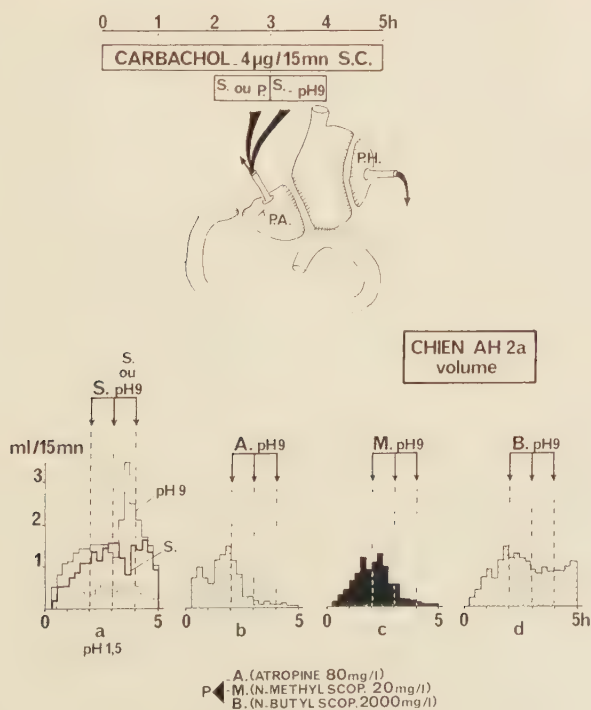


FIGURE 49

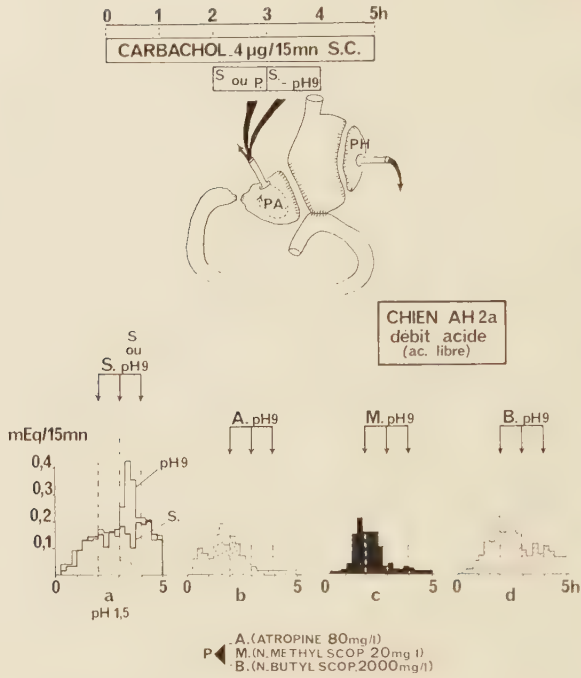


FIGURE 50

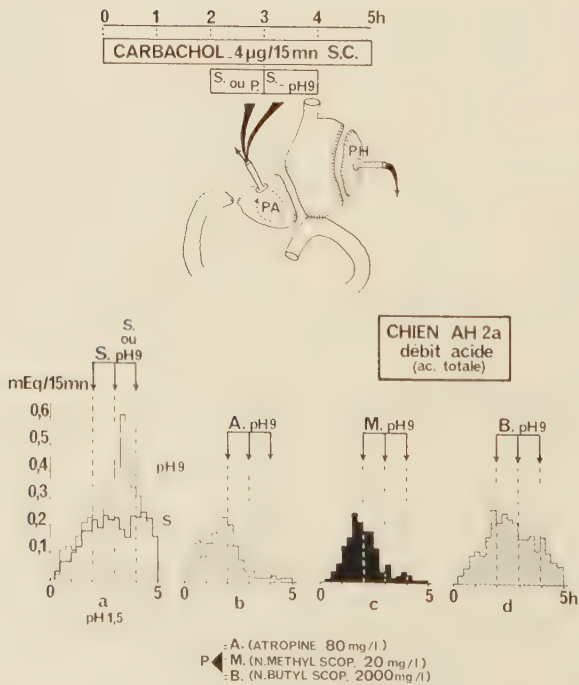


FIGURE 51



Variations, chez le Chien, de la réponse sécrétoire acide de la poche de Heidenhain, après introduction d'anticholinergiques dans la poche antrale énercée, préalablement à sa stimulation par une solution tampon à pH 9,2

Légende :

P : parasympholytiques; pH 9 : solution tampon à pH 9,2; mEq/15 mn : débit acide exprimé en milli-équivalents d'ions H^+ sécrétés par fractions de 15 minutes; S : solution de NaCl 0,154 M; M.S. : solution de N-méthyl scopolammonium à 20 mg/l; A : solution d'atropine à 80 mg/l; B.S. : solution de N-butyl scopolammonium à 2 000 mg/l; P.H. : poche de Heidenhain; P.A. : poche antrale énercée.

Chaque courbe correspond au débit moyen calculé à partir de 18 expérimentations réalisées sur quatre chiens différents.

Courbes marquées « S » : débit acide moyen entretenu par les seules injections sous-cutanées de carbachol, répétées toutes les quinze minutes pendant cinq heures; une solution S est perfusée dans la poche antrale pendant les 3^e et 4^e heures d'expérimentation.

Courbes marquées « pH 9 » : débit acide moyen entretenu comme en « S », la perfusion dans la poche antrale, pendant la quatrième heure d'expérimentation, étant une solution tampon à pH 9,2.

Courbes marquées « A + pH 9 », « M.S. + pH 9 », « B.S. + pH 9 » : débits acides moyens entretenus comme en « pH 9 », la solution « S » perfusée dans la poche antrale pendant la troisième heure d'expérimentation étant remplacée par une solution A, M.S. ou B.S.

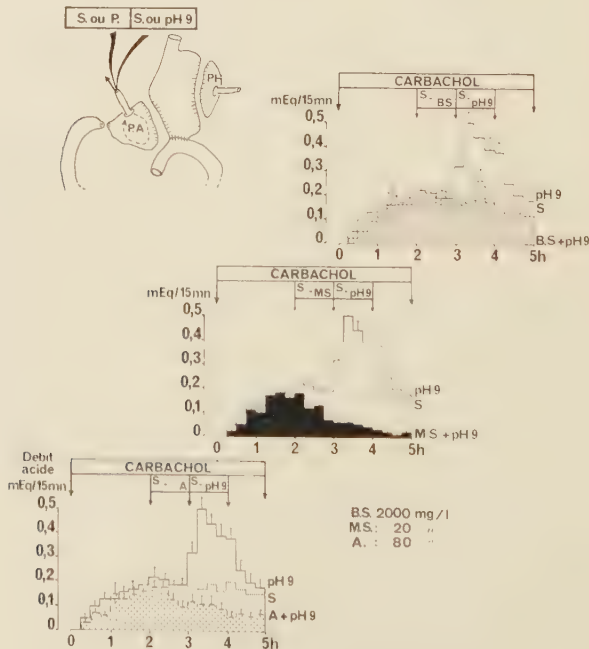


TABLEAU 52

*Variations du débit sécrétoire acide (acidité totale)
au niveau de la poche de Heidenhain des chiens du groupe B,
selon la situation expérimentale.*

Période expérimentale considérée		Débit horaire moyen (mEq/h) selon la situation expérimentale				
Horaire	N° des recueils correspondants	B I	B II	B III	B IV	B V
61 mn à 120 mn	5 à 8	0,57 $\pm 0,073$	0,64 $\pm 0,076$	0,56 $\pm 0,047$	0,64 $\pm 0,072$	0,58 $\pm 0,053$
		Comparaison des moyennes avec		t=0,162	0,881	0,074
				t=1,178	0,105	1,169
121 mn à 180 mn	9 à 12	0,74 $\pm 0,069$	0,84 $\pm 0,092$	0,60 $\pm 0,045$	0,52 $\pm 0,048$	0,76 $\pm 0,061$
		Comparaison des moyennes avec		t=2,274 *	3,119 **	0,347
				t=2,653 *	3,628 **	1,071
181 mn à 240 mn	13 à 16	0,74 $\pm 0,079$	1,70 $\pm 0,106$	0,41 $\pm 0,078$	0,23 $\pm 0,053$	0,70 $\pm 0,066$
		Comparaison des moyennes avec		t=2,803 *	4,648 **	0,353
				t=10,89 **	13,79 **	9,029 **
241 mn à 300 mn	17 à 20	0,68 $\pm 0,073$	1,05 $\pm 0,140$	0,27 $\pm 0,043$	0,10 $\pm 0,021$	0,41 $\pm 0,040$
		Comparaison des moyennes avec		t=4,293 **	6,892 **	2,919 *
				t=6,242 **	6,977 **	4,915 **

La valeur du t de Student-Fisher est suivie de :

* lorsque les moyennes sont *significativement* différentes ($P < 0,05$).

** lorsque les moyennes sont *très significativement* différentes ($P < 0,01$).

TABLEAU 53

*Variations du débit sécrétoire pepsinique
au niveau de la poche de Heidenhain des chiens du groupe B,
selon la situation expérimentale.*

Période expérimentale considérée		Débit horaire moyen (μ Moles tyrosine) selon la situation expérimentale				
Horaire	N° des recueils correspondants	B I	B II	B III	B IV	B V
61 mn à 120 mn	5 à 8	10,1 $\pm 2,65$	10,5 $\pm 1,31$	14,4 $\pm 4,95$	8,7 $\pm 2,78$	11,5 $\pm 3,50$
		Comparaison des moyennes avec	B I	$t = 1,438$	0,534	1,00
			B II	$t = 0,675$	1,43	0,500
121 mn à 180 mn	9 à 12	14,7 $\pm 2,98$	18,4 $\pm 2,97$	9,6 $\pm 2,86$	8,0 $\pm 1,25$	15,0 $\pm 5,0$
		Comparaison des moyennes avec	B I	$t = 1,444$	2,662 *	1,0 *
			B II	$t = 1,900$ *	2,864 *	0,333
181 mn à 240 mn	13 à 16	12,4 $\pm 2,67$	29,5 $\pm 5,16$	2,4 $\pm 1,02$	3,9 $\pm 0,30$	9,5 $\pm 3,5$
		Comparaison des moyennes avec	B I	$t = 5,532$ **	5,008 **	0,168
			B II	$t = 4,067$ **	5,014 **	3,857 **
241 mn à 300 mn	17 à 20	14,3 $\pm 4,07$	22,6 $\pm 4,46$	1,5 $\pm 0,83$	2,3 $\pm 0,84$	7,5 $\pm 2,5$
		Comparaison des moyennes avec	B I	$t = 3,86$ **	4,11 **	1,80
			B II	$t = 4,102$ **	4,343 **	2,81 *

La valeur du t de Student-Fisher est suivie de :

* lorsque les moyennes sont *significativement* différentes ($P < 0,05$).

** lorsque les moyennes sont *très significativement* différentes ($P < 0,01$).

TABLEAU 54

Actions comparées de l'application antrale d'atropine, de N-méthyl ou N-butyl scopolammoniums sur la réponse sécrétoire acide de la poche de Heidenhain à une stimulation de l'antré énérvée par une solution à pH 9,2.

Période considérée		Situation expérimentale		Débit horaire moyen (mEq)	Action du produit (% d'inhibition par rapport à B II)
Horaire	N° des recueils	Type	Solution introduite dans la P.A.		
121 mn à 180 mn	9 à 12	B II	NaCl (0,15 M)	0,84	—
		B III	Atropine	0,60	↓ 28 %
		B IV	N-méthyl scopolammonium	0,52	↓ 38 %
		B V	N-butyl scopolammonium	0,76	Moyennes non significativement différentes
181 mn à 240 mn	13 à 16	B II	Solution tampon à pH 9,2	1,70	—
		B III		0,41	↓ 76 %
		B IV		0,23	↓ 86 %
		B V		0,70	↓ 59 %
241 mn à 300 mn	17 à 20	B II	Néant	1,05	—
		B III		0,27	↓ 74 %
		B IV		0,10	↓ 90 %
		B V		0,41	↓ 61 %

Atropine (sulfate) : 80 mg/l.

N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 20 mg/l.

N-butyl scopolammonium (bromure) : 2 000 mg/l.

TABLEAU 55

Actions comparées de l'application antrale d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammoniums sur la réponse sécrétoire pepsinique de la poche de Heidenhain à une stimulation de l'antré éternée par une solution à pH 9,2.

Période considérée		Situation expérimentale		Débit horaire moyen (μ Moles tyrosine)	Action du produit (% d'inhibition par rapport à B II)
Horaire	N° des recueils	Type	Solution introduite dans la P.A.		
121 mn à 180 mn	9 à 12	B II	NaCl (0,15 M)	18,4	—
		B III	Atropine	9,6	↓ 48 %
		B IV	N-méthyl scopolammonium	8,0	↓ 57 %
		B V	N-butyl scopolammonium	15,0	NS $\neq$
181 mn à 240 mn	13 à 16	B II	Solution tampon à pH 9,2	29,5	—
		B III		2,4	↓ 92 %
		B IV		3,9	↓ 87 %
		B V		9,5	↓ 68 %
241 mn à 300 mn	17 à 20	B II	Néant	22,6	—
		B III		1,5	↓ 93 %
		B IV		2,3	↓ 90 %
		B V		7,5	↓ 67 %

Atropine (sulfate) : 80 mg/l.

N-méthyl scopolammonium (méthyl sulfate) : 20 mg/l.

N-butyl scopolammonium (bromure) : 2 000 mg/l.

Quelques petites différences apparaissent entre ces résultats et ceux qui furent notés lors de la perfusion de la poche antrale par une solution de glycine :

— *la stimulation de la sécrétion pepsinique est ici plus nette (tableau 53 et figure 51);*

— si l'on considère les activités inhibitrices des trois substances (reportées sur les tableaux 54 et 55) et notamment au moment de la stimulation antrale par la solution à pH 9,2 (recueil effectué de la 181^e à la 240^e minute d'expérimentation), il semble que les pourcentages de diminution de la réponse sécrétoire soient assez comparables : 76 p. 100, 86 p. 100 et 59 p. 100 dans le cas du débit acide, et 92 p. 100, 87 p. 100 et 68 p. 100 dans le cas du débit pepsinique.

Pourtant, lorsque les valeurs moyennes des débits réels (tableaux 52 et 53) sont comparées selon les techniques statistiques habituelles, les moyennes relatives à la situation expérimentale B V sont à chaque fois significativement différentes des moyennes relatives à B III ou B IV, au cours des deux dernières heures d'expérimentation.

Ainsi, dès les concentrations de 20 mg/kg, 80 mg/kg et 2 000 mg/kg, les solutions contenant respectivement le N-méthyl scopolammonium, l'atropine et le N-butyl scopolammonium conduisent à deux ensembles de résultats, statistiquement différents entre eux :

— *d'une part le N-méthyl scopolammonium et l'atropine, qui sont équi-actifs entre eux;*

— *d'autre part, le N-butyl scopolammonium, significativement moins actif, dans ces conditions expérimentales, que les deux composés précédents.*

Conclusion sur l'évaluation comparative, chez le Chien, des activités anti-sécrétoires exercées par l'atropine, les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums introduits sous forme de solutions dans la poche antrale, préalablement à sa stimulation.

Les résultats reportés dans ce chapitre mettent en évidence une *distorsion de l'échelle d'activité relative établie à la suite de l'évaluation in vitro* des activités anticholinergiques des trois substances. En effet, si des solutions d'atropine et de N-méthyl scopolammonium — dont les concentrations sont proportionnelles aux concentrations d'équi-activité anticholinergique, déterminées in vitro — manifestent bien la même activité antisécrétoire au cours des présentes expérimentations, cette activité est supérieure à celle du N-butyl scopolammonium, administré dans des conditions identiques.

L'importance de cette distorsion ne peut être calculée avec précision, les fluctuations des résultats et les difficultés du choix des critères d'évaluation de l'activité de chaque substance étant très grandes. C'est pourquoi une nouvelle échelle de doses entraînant une équi-activité ne sera pas proposée, à la suite de ces travaux. La difficulté d'une évaluation précise de l'antagonisme exercé par l'atropine, lors de cette application locale dans l'antré gastrique, ressort d'ailleurs du simple examen des résultats publiés par les auteurs qui ont démontré le blocage de la réponse sécrétoire gastrique à diverses stimulations de la poche antrale. Aussi bien Gregory & Ivy (1941) que Lim & Mozer (1950), Nyhus & al. (1960) ou Redford (1963) signalent « l'inhibition totale » de la réponse sécrétoire gastrique par l'introduction d'une solution d'atropine dans l'antré. Seuls, Olbe & Elwin (1966) évoquent une « diminution partielle » du débit, sans en préciser l'importance exacte.

III.B.₅ — DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTISÉCRÉTOIRE CHEZ LE RAT A LIGATURE PYLORIQUE.

Cinq séquences de doses proportionnelles aux doses d'équi-activité anticholinergique ont été administrées chez le Rat par voie sous-cutanée. Ces séquences, numérotées de (a) à (e) se trouvent précisées par le tableau 56. Pour une même substance, la dose la plus élevée est cinquante fois supérieure à la dose la plus faible; ceci semble constituer un éventail suffisant pour l'exploration de l'activité antisécrétoire et l'établissement d'une éventuelle relation dose/réponse.

La figure 53 a été composée à partir des valeurs des débits moyens, pour les quatre heures de durée de l'expérimentation.

TABLEAU 56

Activités antisécrétoires comparées de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums, administrés par voie sous-cutanée chez le rat à ligature pylorique (4 heures).

SEQUENCES DE DOSES UTILISEES

(proportionnelles à des doses d'équi-activité anticholinergique, déterminées in vitro).

Substances anticholinergiques	Séquences (mg/kg)				
	a	b	c	d	e
Atropine	0,08	0,4	1	2	4
N-méthyl scopolammonium .	0,02	0,1	0,25	0,5	1
N-butyl scopolammonium ...	2	10	25	50	100

L'évaluation des inhibitions exercées par chaque type de traitement est exprimée, sur les tableaux 57 a, b et c, en « pour cent » des moyennes relatives au lot de contrôle correspondant.

Deux commentaires peuvent accompagner ces tableaux :

1) *Pour aucune des substances utilisées, l'expérimentation n'a permis de mettre en évidence une différence significative entre les effets inhibiteurs entraînés par la dose la plus basse et par la dose la plus élevée de l'éventail choisi.*

Ce n'est d'ailleurs pas l'écart entre les doses extrêmes qui est trop faible, mais bien *la technique elle-même qui n'est pas suffi-*

samment sensible pour qu'un caractère significatif puisse être accordé à de telles différences. Prenons le cas du N-butyl scopolammonium : de 100 mg/kg à 10 mg/kg, toutes les réponses obtenues ne peuvent être dissociées significativement, d'après leur intensité. Si la dose la plus faible se trouve alors diminuée de cinq fois, la réponse obtenue n'est plus statistiquement différente du résultat relatif au lot de contrôle. Il est donc impossible, dans les conditions expérimentales qui ont été observées, d'établir une relation [dose d'anticholinergique/effet antisécrétoire] qui soit valable.

FIGURE 53

Détermination comparative de l'activité antisécrétoire de l'atropine, des N-méthyl et N-butyl scopolammonium chez le Rat à ligature pylorique

La figure se répartit en trois diagrammes représentant les variations, en fonction des doses administrées, des débits volumiques et des débits acides (acide libre et acide total) chez les différents lots de contrôle et chez les lots ayant reçu l'une des substances anticholinergiques.

Un cartouche précise les traitements administrés, à l'aide des coordonnées tri-dimensionnelles des graphiques.

Abréviations utilisées :

— N. But. Scop. : N-butyl scopolammonium.

— N. Mét. Scop. : N-méthyl scopolammonium.

— mEq/4 h : débit sécrétoire acide moyen exprimé en milli-équivalents d'ions H^+ excrétés en quatre heures.

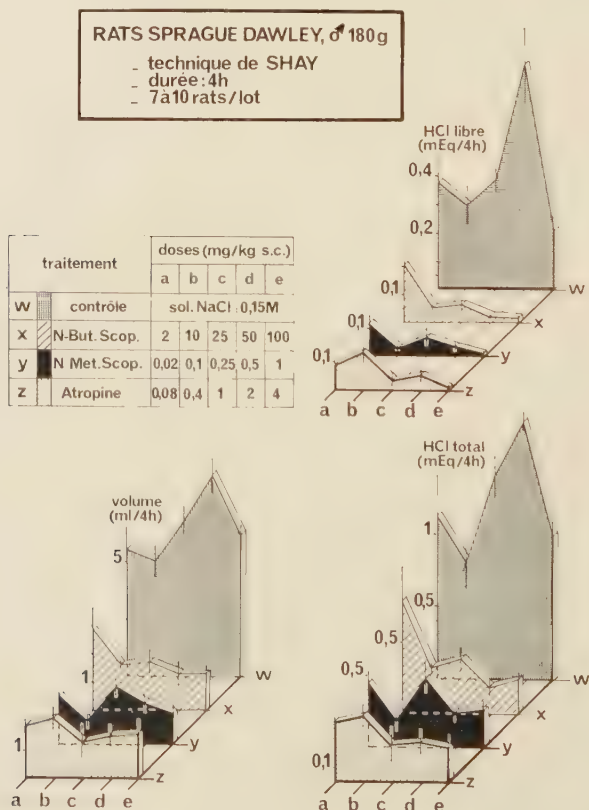


TABLEAU 57

Inhibitions de la sécrétion gastrique du rat à ligature pylorique enregistrées au niveau des différents paramètres.

(Inhibitions exprimées en « pour cent » des moyennes relatives au lot « contrôle ».)

a) *Volume*

	Séquences de doses				
	a	b	c	d	e
Atropine	58 %	46 %	77 %	79 %	67 %
N-méthyl scopolammonium .	61 %	81 %	63 %	80 %	67 %
N-butyl scopolammonium ...	(§)	61 %	69 %	82 %	73 %

b) *Débit acide (acide libre)*

Atropine	77 %	54 %	91 %	93 %	95 %
N-méthyl scopolammonium .	71 %	92 %	82 %	96 %	95 %
N-butyl scopolammonium ...	(§)	85 %	85 %	98 %	91 %

c) *Débit acide (acide total)*

Atropine	63 %	44 %	82 %	84 %	76 %
N-méthyl scopolammonium .	62 %	78 %	67 %	87 %	74 %
N-butyl scopolammonium ...	(§)	63 %	73 %	90 %	76 %

(§) Les résultats relatifs au lot « traité » ne sont pas statistiquement différents ($P > 0,05$) de ceux présentés par le lot « contrôle ».

2) Pour une séquence donnée de doses, *les trois substances n'ont jamais provoqué de réponses statistiquement différentes entre elles*. Il semble cependant hasardeux d'en conclure que les produits exercent, dans le cadre de chacune de ces séquences, une équi-activité antisécrétoire... puisqu'un même composé ne manifeste pas de potentialités différentes lorsqu'il se trouve administré à des doses aussi éloignées que celles des séquences (a) et (e).

Lieber (1957), qui utilise une voie d'injection différente (intramusculaire), enregistre une inhibition du débit acide de 50 p. 100 à la dose de 0,10 mg/kg. Ces résultats sont du même ordre que ceux qui figurent sur le tableau 57. Cependant, la magnifique relation [dose/effet antisécrétoire] mise en évidence par l'auteur, n'a jamais été retrouvée ici.

III.B.₆ — DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTISÉCRÉTOIRE CHEZ LE RAT A FISTULISATION TRANSDUODÉNO-PYLORIQUE.

La figure 54 fait ressortir la très grande homogénéité des résultats moyens relatifs aux cinq lots de contrôle (à rapprocher de la très grande dispersion des mêmes résultats moyens des lots de contrôle, dans le cas de la technique de la ligature pylorique); la possibilité de détermination d'un débit moyen « témoins » unique, avec lequel pourront s'effectuer toutes les comparaisons des résultats des groupes « traités », constitue alors un avantage certain.

L'observation de cette figure fait également apparaître une différence nette entre les débits acides moyens consécutifs à l'administration de la séquence de doses (a) d'anticholinergiques (lot « traité » T₁), et les débits correspondants obtenus après administration des séquences de doses (b), (c), (d) et (e) (lots « traités » T₂, T₃, T₄ et T₅). Ces quatre dernières séquences conduisent à des résultats non significativement différents entre eux. En revanche, ils sont significativement différents des résultats enregistrés après expérimentation de la séquence (a). Il semble donc que l'on arrive, avec cette dernière série de doses, à un seuil d'activité antisécrétoire différent. En ce sens, la technique de la fistule transduodéno-pylorique paraît plus sensible, et donc supérieure à la technique de ligature pylorique.

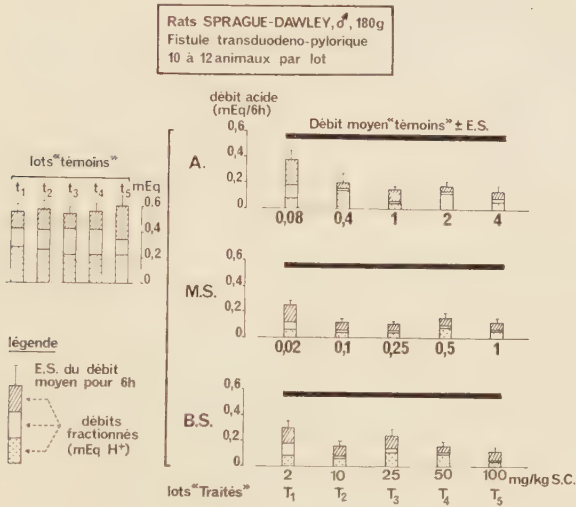
Une comparaison statistique des résultats relatifs à chacune des séquences de doses administrées montre que *l'atropine, les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums présentent, dans ces conditions expérimentales, la même échelle d'activité antisécrétoire que l'échelle d'activité anticholinergique déterminée par ailleurs*.

Les tableaux 48 a et 48 b regroupent les valeurs numériques qui rendent compte des inhibitions exercées dans chaque situation.

En conclusion, lorsque la sécrétion gastrique du rat ne se trouve pas stimulée par une substance pharmacologique, comme dans les cas de la technique de la ligature pylorique ou de la fistule transduodéno-pylorique, l'activité antisécrétoire manifestée par l'atropine et les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums semble rester directement proportionnelle à l'activité anticholinergique de chaque substance, telle qu'elle peut être déterminée sur le jéjunum isolé de rat.

FIGURE 54

Détermination comparative de l'activité antisécrétoire de l'atropine, des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums chez le Rat contraint, porteur d'une fistule transduodéno-pylorique



Légende :

— mEq/6 h : débit acide total exprimé en milli-équivalents d'ions H⁺ excrétés en six heures.

— Débit moyen « témoins » ± E.S. : la largeur du trait noir représente, à l'échelle du graphique, la fluctuation du débit chez les animaux de contrôle (moyenne générale ± erreur standard).

— « Témoins » (t₁ à t₅) et « traités » (T₁ à T₅) : à chaque groupe de contrôle numéroté t₁ à t₅ correspond une séquence de trois groupes, chacun d'eux ayant reçu une substance anticholinergique et dont les résultats sont situés l'un au-dessus de l'autre, à la verticale du repère correspondant (T₁ à T₅). Les doses administrées par voie sous-cutanée sont indiquées sous chaque colonne, et exprimées en mg/kg.

— Colonne exprimant le débit moyen de chaque groupe : elle est divisée en trois zones représentant, de bas en haut, le débit observé au cours des deux premières heures d'expérimentation, puis au cours des deux suivantes et enfin des deux dernières. Le trait vertical représente l'erreur standard de la moyenne du débit, sur six heures.

A : atropine; M.S. : méthyl scopolammonium; B.S. : butyl scopolammonium.

TABLEAU 58

Activités antisécrétoires comparées de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums, administrés par voie sous-cutanée chez le rat à fistulisation transduodéno-pylorique.

— *Technique de Bonfils (1958).*

— *Durée d'étude : 6 heures.*

— *Séquences de doses proportionnelles aux doses d'équi-activité anticholinergique in vitro.*

— *Inhibitions exprimées en « pour cent » des moyennes relatives au lot « contrôle ».*

a) *Volume*

Séquences de doses					
	a	b	c	d	e
Atropine	35 %	57 %	64 %	56 %	68 %
N-méthyl scopolammonium .	57 %	71 %	65 %	55 %	76 %
N-butyl scopolammonium ...	42 %	63 %	45 %	63 %	81 %

b) *Débit acide (acide total)*

Atropine	30 %	63 %	73 %	69 %	73 %
N-méthyl scopolammonium .	55 %	79 %	79 %	72 %	78 %
N-butyl scopolammonium ...	45 %	75 %	57 %	73 %	81 %

IV - DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS

IV. A. — SYNTHÈSE GÉNÉRALE DES RÉSULTATS.

IV.A.₁ — RÉCAPITULATION COMPARATIVE DE TOUS LES RÉSULTATS OBTENUS.

La récapitulation condensée et comparative de l'ensemble des résultats enregistrés à l'issue des différentes expérimentations qui furent entreprises, constitue le tableau 50. Sur ce tableau apparaissent tout d'abord les valeurs des paramètres d'affinités pour les récepteurs muscariniques du jéjunum de rat, telles qu'elles ont pu être déterminées selon la méthode de van Rossum, pour l'atropine, le N-méthyl et le N-butyl scopolammoniums. L'échelle des concentrations entraînant un même effet est reportée au regard des séries de pA_2 calculées; il est rappelé que cette échelle (1/4/100) a été établie en tenant compte, principalement, des résultats obtenus avec l'acétylcholine utilisée sur une préparation éserinée, et avec le furtréthonium. Les deux autres séries de résultats sont davantage suspectes d'imprécision: l'une, relative à l'acétylcholine utilisée en absence d'éserine parce qu'elle se réfère à l'interférence d'un agoniste réputé sensible à l'hydrolyse enzymatique; l'autre, issue de l'usage du carbachol, parce qu'elle correspond à un type d'interaction apparemment non strictement compétitif.

La seconde partie du tableau 59 rassemble tous les résultats colligés lors des expérimentations réalisées *in vivo* dans les trois situations fondamentalement différentes qui ont été choisies. La même échelle, 1/4/100 des doses équivalentes — pour, respectivement, le N-méthyl scopolammonium, l'atropine et le N-butyl scopolammonium — se retrouve dans le cas de la stimulation vagale par l'insuline ou par le 2-DDG, chez le chien (pour, au moins, un paramètre sécrétoire), ainsi que dans le cas de la sécrétion du rat non stimulée par une quelconque substance pharmacologique.

*Pour toutes les autres expérimentations, le N-méthyl scopolammonium et l'atropine sont équivalents lorsqu'ils se trouvent administrés à des doses qui respectent la proportion 1/4. En revanche, le N-butyl scopolammonium utilisé à des doses cent fois supérieures à celles de son homologue méthylé est tantôt plus actif que ne le laissent prévoir les résultats obtenus *in vitro* — cas de la stimulation insulinaire chez le rat — tantôt de potentialité inférieure à celle des deux autres substances. Cette sous-activité relative s'observe constamment dans le cas d'une simple instillation de solution sécrétagogue au niveau de la muqueuse antrale. Elle ne se remarque qu'occasion-*

Tableau récapitulatif des résultats expérimentaux.

Activité re-cherchée	Situation expérimentale	Agoniste (ou stimulant)	Résultats			
Activité anticholinergique périphérique	Etude in vitro de la contraction du jéjunum de rat	Acétylcholine	pA ₂ A.	pA ₂ M.S.	pA ₂ B.S.	Concentrations relatives de M.S./A./B.S. entraînant une équival-activité 1/4/100
			8,19	8,45	5,36	
		Acétylcholine (+ésérine)	8,60	9,11	6,77	
		Furtréthonium	8,64	9,25	7,28	
		Carbachol	8,67	8,62	6,35	
Activité anti-sécrétoire	Stimulation vagale chez un animal à fistule gastrique permanente	Insuline (rat)	Echelle de doses équival-actives pour inhiber la sécrétion acide		la sécrétion pepsinique	
			1/4/50		—	
		Insuline (chien)	M.S./A. : 1/4 B.S. : relativement moins actif		1/4/100	
		2 - DDG (chien)	1/4/100		M.S./A. : 1/4 B.S. : relativement moins actif mais interprétation difficile (2 animaux seulement)	
	Stimulation et inhibition par perfusions dans la P.A.; mesure de la réponse sécrétoire de la P.H. (chien)	Solution de glycine à 3 p. 100	1/4 pour M.S./A. B.S. : relativement moins actif		1/4 pour M.S./A. B.S. : relativement moins actif	
		Solution tampon à pH 9,2				
	Sécrétion non entretenue par une substance pharmacologique	Ligature du pylore	1/4/100		—	
		Contrainte	1/4/100		—	

A = atropine.

M.S. = N-méthyl scopolammonium.

B.S. = N-butyl scopolammonium.

P.A. = poche antrale énnervée.

P.H. = poche de Heidenhain.

nellement, et pour un seul des paramètres sécrétoires dans le cas de la stimulation vagale du chien; ce paramètre semble varier assez curieusement selon que la stimulation vagale est induite par une injection d'insuline ou par une perfusion lente de 2-DDG. Il serait cependant illusoire de prétendre tirer une conclusion définitive de ces différences d'évaluation antisécrétoire après stimulation par l'insuline ou par le 2-DDG. En effet, les populations sur lesquelles portent les comparaisons statistiques sont bien, respectivement de 12 et 8 valeurs numériques, mais elles correspondent à des groupes expérimentaux de seulement trois et deux individus.

IV.A.₂ — COMPARAISONS DES RÉSULTATS OBTENUS, DANS LEUR ENSEMBLE, AVEC LES RÉSULTATS ENREGISTRÉS DANS D'AUTRES SITUATIONS EXPÉRIMENTALES.

Effectués selon un protocole peu différent de celui qui a été adopté pour les présentes déterminations d'activité antimuscarinique — et en utilisant, en particulier, le jéjunum isolé de rat —, les travaux de Sund (1970) ont conduit l'auteur à accorder une potentialité relative de 1,96 au N-méthyl scopolammonium et de 0,0037 au N-butyl scopolammonium, lorsque l'atropine est affectée arbitrairement de la valeur unitaire de référence. Dans le système d'expression qui a été adopté précédemment, l'échelle des doses équivalentes devient 1/2/500 pour, respectivement, le N-méthyl scopolammonium, l'atropine et le N-butyl scopolammonium. Les positionnements relatifs des deux premières substances entrent parfaitement dans les limites de fluctuations de nos propres résultats. Par contre, l'évaluation de la potentialité du N-butyl scopolammonium est très inférieure à celle qui figure sur les tableaux 26, 27 et 59, et elle sort très largement des limites de fluctuations des résultats qui y sont reportés. Cette différence entre nos résultats et ceux de l'auteur peut provenir du fait que ce dernier évalue l'activité anticholinergique par la méthode des ED 50 — dont nous aurons l'occasion de signaler à nouveau toutes les imperfections —, et en ne laissant l'antagoniste au contact de l'effecteur que pendant une minute avant l'adjonction de l'agoniste, ce qui diminue encore la sensibilité de la technique.

Utilisant l'iléon de cobaye comme préparation isolée, Aguilhaume (1970) arrive, pour les trois mêmes substances, à l'échelle de doses équivalentes 1/4/60. Cette fois, le N-butyl scopolammonium paraît légèrement surévalué en regard de nos propres résultats; cette sur-estimation peut être due à la sensibilité de l'iléon de cobaye pour les substances nicotiques (van Rossum, 1963) et à l'activité ganglioplégique importante du N-butyl scopolammonium (Sund, 1970).

La détermination comparative de l'activité antisécrétoire des trois substances a été réalisée dans deux situations et selon deux techniques très originales par Duchêne-Marullaz & al. (1972 et 1974). Dans le premier cas (1972), il s'est agi de rechercher l'inhibition du rebond acide consécutif à l'introduction de bicarbonate de sodium, chez le rat anesthésié à pyllore lié; une perfusion gastrique à double courant permet de mesurer, en continu, le pH du contenu stomacal. Dans ces conditions, les doses de N-méthyl scopolammonium, d'atropine et de N-butyl scopolammonium qui sont nécessaires pour inhiber, dans 50 p. 100 des cas expérimentaux, l'hypersécrétion acide, sont

proportionnelles à 1/2/50 si les produits sont injectés par voie intraveineuse. Ces résultats sont donc assez peu différents de ceux que nous avons enregistrés dans certaines situations expérimentales, pourtant très éloignées de celle-ci, comme, par exemple, la stimulation insulinique du rat à fistulisation gastrique permanente, où nous sommes arrivés à la proportion 1/4/50.

La seconde série de travaux entrepris par Duchêne-Marullaz & al. (1974) pour préciser certains aspects de l'activité antisécrétoire de l'atropine et des deux dérivés de la scopolamine a été organisée autour du même thème : c'est encore l'inhibition du rebond sécrétoire consécutif à l'alcalinisation gastrique qui a été utilisée comme critère de détermination de l'activité relative, pour chacun des trois composés. Cette fois, les variations du pH gastrique ont été enregistrées chez le chien Beagle vigile, selon une méthode téléométrique. Le calcul des doses efficaces pour inhiber l'apparition de l'hyperacidité dans 50 p. 100 des cas expérimentaux conduit à des échelles de doses équivalentes très différentes de celles qui ont pu être obtenues dans toutes les autres situations expérimentales : elle est de 1/1/150 après administration orale, mais surtout de 1/1/1 000 après administration par voie intraveineuse. En rapprochant ces résultats de ceux qui sont rappelés sur le tableau 59, doit-on évoquer une insensibilité particulière au chien pour le N-butyl scopolammonium ? Cela constitue sûrement un des éléments de la discussion qui devra être développé.

Si l'on reste au niveau de l'étage gastrique, mais en s'éloignant encore davantage de l'exploration de la réponse sécrétoire des cellules fundiques modifiée par l'administration des trois anticholinergiques, il faut remarquer le parallélisme certain qui relie l'activité antisécrétoire du N-méthyl scopolammonium et de l'atropine à leur activité préventrice des hémorragies digestives provoquées par la phénylbutazone (Duchêne-Marullaz & al., 1970 et 1971). Les doses équivalentes sont alors proportionnelles à 1 et 3.

Enfin, les auteurs qui recherchent l'activité anticholinergique périphérique des mêmes substances peuvent également s'adresser à d'autres effecteurs, puisque cette classe pharmacologique intervient sur les réponses de presque tous les systèmes de l'organisme. Ainsi, par exemple, Herz & al. (1965) calculent qu'une dose d'atropine doit être cinq fois supérieure à celle du N-méthyl scopolammonium pour que les deux composés entraînent le même effet mydriatique; Duchêne-Marullaz & al. (1968) administrent les produits par voie orale à des chiens Beagle vigiles et enregistrent l'importance de la tachycardie : N-méthyl scopolammonium et atropine sont d'activités équivalentes, dans ces conditions expérimentales, tandis que le N-butyl scopolammonium reste inactif à des doses dix fois supérieures.

IV.A₃ — MISE EN ÉVIDENCE DE PARALLÉLISME ET DE DIVERGENCES ENTRE LES RÉSULTATS ENREGISTRÉS DANS LES DIVERSES SITUATIONS EXPÉRIMENTALES.

L'observation du tableau 59 met en évidence un parallélisme frappant entre la proportion des concentrations de N-méthyl scopolammonium et d'atropine qu'il faut respecter pour entraîner, *in vitro*,

la même activité anticholinergique, et la proportion que l'on doit réaliser entre les doses de ces substances, si l'on veut induire un effet antisécrétoire similaire, chez le Rat et le Chien.

Cette constatation peut paraître banale. En fait, elle n'avait pas été démontrée de façon formelle; bien au contraire, nous avons vu, au cours de la revue bibliographique, que de nombreux auteurs ont souligné de multiples distorsions entre les résultats obtenus sur organes isolés et ceux qui sont enregistrés sur l'animal entier. Ariens & Simonis (1964 a) rappelaient avec prudence que les informations recueillies sur les effecteurs isolés ne peuvent donner qu'une « indication » de l'activité de la substance chez l'animal vivant. Chez le mammifère en particulier, la complexité de l'organisme est telle que les conclusions de l'étude *in vitro* ne suffisent pas à prédire avec précision l'activité finale : il peut y avoir une bio-activation ou une bio-dégradation du composé, une impossibilité à atteindre une concentration efficace dans la biophase de l'effecteur.

Quoi qu'il en soit, en considérant les résultats de ce travail, il semble que l'on puisse assurer qu'il existe une bonne corrélation entre les potentialités antimuscariniques des vagolytiques puissants que sont l'atropine et le N-méthyl scopolammonium, et leur potentialité antisécrétoire déterminées dans les conditions expérimentales de cette étude. Duchêne-Marullaz & Vacher (1962) comparaient l'inhibition de l'action de l'acétylcholine exercée par divers parasympholytiques sur l'iléon ou l'oreillette isolés de cobaye, à l'inhibition, par ces substances, de la cardiomodération provoquée par l'excitation du bout périphérique du vague, chez le même animal. La constatation d'une absence totale de correspondance entre les efficacités de certains produits dans ces différents tests, venait alors renforcer la notion d'un intérêt surtout qualitatif des méthodes d'étude *in vitro*, dans l'appréciation d'un anticholinergique. Les présents résultats relatifs à l'atropine et au N-méthyl scopolammonium modèrent cette conclusion. Il apparaît d'ailleurs que les différences que l'on peut relever entre ces résultats et les nôtres proviennent essentiellement du progrès réalisé, lors de la dernière décennie, dans l'évaluation *in vitro* des antagonistes. Par exemple, dans la publication de référence, les doses équivalentes d'atropine et de N-butyl scopolammonium respectaient la proportion de 1 à 10 ou 15, mais elles se trouvaient évaluées par utilisation de l'iléon de cobaye et selon la méthode imprécise des DE 50.

Après avoir tenté de rapprocher les résultats issus des expérimentations réalisées sur organes isolés, de l'ensemble de ceux qui proviennent d'organismes vivants, on peut songer à comparer deux à deux les échelles d'activité relatives établies dans chaque type de situation expérimentale. De ce point de vue, il faut remarquer que les essais d'évaluation de l'activité antisécrétoire de chaque produit, lorsqu'ils sont effectués selon des techniques qui rejettent toute stimulation de la sécrétion gastrique par une substance pharmacologique, conduisent toujours à une proportion de doses équivalentes identique à celle qui fut établie lors des études *in vitro*. Cependant, ce parallélisme n'intéresse que la sécrétion acide puisqu'il a été décidé, au début de l'étude, d'exclure de nos préoccupations tout dosage du débit pepsinique chez le Rat, compte tenu de sa très grande variabilité. Par ailleurs, il est impossible de superposer exactement les résultats obtenus dans deux situations différentes pour l'ensemble des trois produits.

Enfin, il faut tenter une comparaison des résultats obtenus en fonction de l'espèce animale utilisée; celle-ci est très difficile car le Rat et le Chien ne se sont pas trouvés placés, l'un et l'autre, dans toutes les situations expérimentales, pour des raisons évidentes : la réalisation d'une poche antrale couplée à une poche de Heidenhain, chez le Rat, tient de la prouesse technique, tandis que la ligature du pylore ou la contrainte, chez un chien vigile, paraissent exclues. Néanmoins, on peut noter que chez le Rat, l'échelle des doses entraînant une équi-activité antisécrétoire est la même que l'échelle des concentrations équi-actives *in vitro* (cas de la sécrétion non entretenue par une substance pharmacologique) ou bien qu'elle est modifiée dans le sens d'une surévaluation de l'activité du N-butyl scopolammonium (cas de la stimulation vagale insulinique). En revanche, chez le Chien, lorsque apparaît une distorsion de l'échelle des doses d'équi-activité antisécrétoire, elle se fait toujours dans le sens d'une sous-activité du N-butyl scopolammonium.

IV.B. — CRITIQUE GENERALE DES RESULTATS.

IV.B.₁ — L'IMPRÉCISION ET LA FLUCTUATION DES RÉSULTATS, CONSÉQUENCES DE L'IMPERFECTION DES TECHNIQUES.

Les résultats qui sont présentés ne valent, bien entendu, que ce que valent les protocoles expérimentaux qui ont été suivis.

Ainsi, pour la détermination de l'activité anticholinergique *in vitro*, l'utilisation du jéjunum isolé de rat a été préférée à celle de l'iléon de cobaye ou de tout autre organe isolé, pour les raisons qui ont été exposées précédemment (IB₁). Mais, après le choix de l'organe, le déroulement précis de la séquence expérimentale conditionne, de façon surprenante, la validité du résultat enregistré. Nous avons pu, récemment, préciser par ailleurs (Dureng & al., 1973) l'importance de divers facteurs qui perturbent l'expérimentation *in vitro*. Parmi ceux-ci, il faut citer « l'effet expérimentateur », l'incidence de l'ordre de réalisation des essais avec chacun des produits ou chacune des doses d'un même produit, l'influence de la durée qui sépare le sacrifice de l'animal de l'utilisation de l'organe isolé, la perte d'information qui accompagne des effectifs expérimentaux faibles.

Nous avons tenté de pallier ces inconvénients en multipliant les postes de travail, occupés simultanément par plusieurs expérimentateurs qui effectuent la même détermination, en répartissant au hasard l'ordre des diverses expérimentations, en rejetant tous les organes provenant d'un animal sacrifié depuis plus de deux heures, en augmentant le plus possible la population de résultats sur laquelle reposent les calculs de chaque paramètre. Parce que nous avons pris toutes ces précautions, nous pensons que les résultats issus des travaux réalisés *in vitro* sont dignes d'une confiance certaine.

Dans le cas des études concernant l'activité antisécrétoire des trois parasympatholytiques, les résultats doivent également être interprétés en fonction du protocole précis qui a été suivi. Si les substances n'avaient pas été administrées en même temps que le stimulant, dans le cas d'une injection unique, mais trente minutes plus

tôt ou plus tard, le résultat en aurait été peut-être différent. De la même façon, si les solutions d'anticholinergiques n'avaient pas été perfusées dans la poche antrale avant la perfusion des sécrétagogues, mais simultanément à celle-ci, nous ne serions peut-être pas parvenus aux mêmes évaluations d'activité. Autrement dit, il faudra bien se garder de trop extrapoler à partir des valeurs obtenues : elles ne reflètent pas *fondamentalement* l'activité recherchée...

Une autre préoccupation est venue, tout au long de notre travail, moduler la fiabilité que nous accordions aux résultats enregistrés *in vivo*. *Nous avons eu constamment l'impression que la technique de recueil des sécrétions était l'occasion d'erreurs importantes.* Chez le Rat, comme chez le Chien, la collecte des sécrétions s'est toujours effectuée par simple gravité, car l'introduction d'un liquide de rinçage par les canules pouvait être considérée comme une stimulation supplémentaire et perturbatrice. Procédant ainsi, nous avons donc imité Lambert (1961), Shapira & State (1961), Hirschowitz & O'Leary (1964), Mignon & al. (1966), Williams & Forrest (1969), Dutt & Magee (1972). Pourtant, ces derniers préfèrent la technique du rinçage lorsqu'ils recueillent les sécrétions d'une poche de Heidenhain, dont les volumes sont plus faibles — et donc plus sujets à des erreurs relatives élevées — que les volumes des sécrétions provenant d'une fistulisation gastrique totale. D'ailleurs, les publications les plus récentes, comme celles de Nakajima & al. (1969) ou de Pederson & Brown (1972) montrent que les auteurs accordent désormais une grande attention au rinçage des poches gastriques, au moment des recueils. En ce sens, nous avons regretté de ne pas avoir connu, avant le début de ces travaux, la technique de Borella & Herr (1971) qui consiste à implanter deux canules dans l'estomac du Rat et à perfuser un soluté en permanence par l'une d'elles. Les auteurs démontrent l'absence de stimulation mécanique, par le fait de la perfusion, et obtiennent un débit sécrétoire acide double de celui qui est recueilli par écoulement spontané. Nous pensons que les très grandes fluctuations observées lors de la stimulation insulinique du Rat (II C₁) auraient pu ainsi être limitées.

Il faut également se demander si l'utilisation des mêmes animaux pendant une période prolongée, durant laquelle ils reçoivent une administration hebdomadaire d'un composé anticholinergique, ne conduit pas à des résultats fort différents selon la date de l'essai pharmacologique. Kowalewski (1964) montre que l'administration parentérale de probanthine, lorsqu'elle est poursuivie pendant trois mois, entraîne une réduction significative de la sécrétion acide du Rat. Trois années plus tard, Kowalewski & Kaspers (1967) précisent que cette réduction du débit sécrétoire est proportionnelle à la durée d'administration du produit, et qu'une atrophie de la muqueuse gastrique apparaît plus fréquemment chez les animaux traités par l'anticholinergique. Cette inhibition prolongée de la sécrétion gastrique du Rat conduit à une hypoplasie d'inactivité avec réduction de la masse des cellules pariétales (Kowalewski, 1967). Récemment, à la suite de travaux sur le rat à fistule gastrique, Lehy & Dubrasquet (1972) ont mis en évidence une inhibition de la sécrétion plus importante au huitième jour d'un traitement quotidien par l'atropine qu'au trentième jour; des modifications histologiques accompagnent le traitement antisécrétoire. *Nous ne pensons pas que cette possibilité de variation dans le temps de la réponse enregistrée puisse être retenue*, dans le cas de nos travaux, et ceci pour deux raisons :

— D'une part, il y a toujours eu *alternance des traitements par les anticholinergiques et des expérimentations de contrôle*, chez le même animal, et aucune diminution significative de l'activité anti-sécrétoire n'est apparue, au cours du temps.

— D'autre part, notre *rythme d'administration des substances anticholinergiques est resté beaucoup plus lent que celui qui fut observé par les auteurs cités précédemment*. En effet, les anomalies rapportées surviennent toujours à la suite d'administrations quotidiennes sinon biquotidiennes (Kovalewski, 1964), tandis que les animaux à fistulisation permanente qui ont été utilisés dans ce travail n'ont reçu, au plus, qu'une administration d'anticholinergique par semaine.

Enfin, la certitude d'une perturbation importante au cours d'un traitement chronique par des anticholinergiques reste, de toutes façons, très discutée. Kaye (1969) administre la probanthine pendant quatre à sept mois à des rats et ne note ni réduction de la sécrétion, ni atrophie de la muqueuse; au contraire, la sécrétion acide serait plutôt augmentée significativement. De leur côté, Norgaard & al. (1970), après de longs traitements réalisés chez l'Homme par divers vagolytiques, ne découvrent ni modification significative de la réponse sécrétoire à l'Histalog, ni variation de la masse des cellules pariétales qui puisse être corrélée à la thérapeutique suivie.

IV.B.₂ — LE CARACTÈRE ARBITRAIRE DU CHOIX DES PARAMÈTRES PERMETTANT D'APPRÉCIER LES DIVERSES ACTIVITÉS EXPLORÉES.

Afin d'interpréter avec toute la prudence indispensable les divers rapprochements d'activité que l'on peut tirer du tableau 59, il est bon de rappeler le caractère très arbitraire des différents paramètres par lesquels se sont trouvées représentées les intensités des activités recherchées.

Ainsi, par exemple, lors de l'évaluation de l'activité anticholinergique, outre les principes de base de la théorie des récepteurs, il a bien fallu accepter l'une des théories qui tentent d'expliquer le mécanisme d'action des substances. *Ce n'est que dans le cadre d'une théorie d'interprétation que peuvent être calculés les paramètres caractérisant l'interaction substance/récepteur*. Nous avons arbitrairement choisi d'utiliser la théorie d'occupation. Elle est probablement très imparfaite. Elle reste cependant très utile : les hypothèses qui, parce qu'elles se sont trouvées corroborées par les faits expérimentaux, ont constitué les bases de cette théorie d'occupation des récepteurs, peuvent être assez facilement exprimées par des formules mathématiques. Celles-ci rendent possible le calcul des différents paramètres qui traduisent l'intensité de l'action des agonistes et antagonistes. Cependant, *il est évident que les formulations mathématiques ne représentent pas la réalité biologique et ne constituent même pas le contenu essentiel des théories proposées*. Les paramètres utilisés pour rendre compte d'un phénomène biologique induisent, comme toujours, un certain sentiment d'insatisfaction : ce ne sont, dans le cas présent, que des moyens imparfaits dont dispose le chercheur pour exprimer, sous forme pratique, l'interaction d'une substance avec ses récepteurs spécifiques. *Aussi simple que soit l'organe isolé (comparativement à l'organisme vivant), il reste un système*

biologique extrêmement complexe sur lequel s'applique avec difficulté un modèle théorique simple. Ce modèle théorique n'est pas seulement une simplification mais une schématisation extraordinairement déformante de la réalité (Ariens & al., 1964 d). Néanmoins, des valeurs expérimentales telles que les pD_2 , pD'_2 ou pA_2 sont indispensables pour analyser le type d'interaction des substances, comparer leur activité et donc les classer entre elles.

Il serait possible, de la même façon, de se pencher longuement sur l'imperfection des paramètres choisis pour apprécier l'activité antisécrétoire d'une substance. Doit-on considérer comme la plus significative, l'action sur les cellules pariétales? sur les cellules principales? Doit-on considérer comme représentatif de l'action antisécrétoire, le degré maximal atteint en un temps donné par l'inhibition? la durée de celle-ci?

Nous avons toujours considéré, comme paramètre d'évaluation, l'inhibition globale réalisée, comparativement au lot de contrôle, jusqu'à la disparition totale de l'effet antisécrétoire; nous avons conscience de l'imperfection de ce critère. Enfin, l'expérimentateur est toujours gêné par la nécessité d'une comparaison entre des activités anticholinergiques exprimables en concentrations équivalentes et des activités antisécrétoires quantifiables par des doses équivalentes. L'idéal serait d'exprimer par un même paramètre l'un et l'autre de ces deux types d'activité: le pA_2 d'activité antisécrétoire sera, en ce sens, très utile, lorsque les techniques d'étude sur estomac isolé de rat seront parfaitement au point. Mais le but de ce travail n'était-il pas de comparer les activités anticholinergiques déterminées *in vitro* aux activités antisécrétoires évaluées *in vivo*?

IV.B.₃ — DÉTERMINATION DES ACTIVITÉS ANTISÉCRÉTOIRES :

LES DIFFICULTÉS D'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS ENREGISTRÉS DANS CHAQUE SITUATION EXPÉRIMENTALE.

La stimulation vagale provoque la réponse sécrétoire par des mécanismes aussi différents que la libération de gastrine antrale (Pe Thein & Schofield, 1959; Olbe, 1966), la stimulation directe des cellules pariétales fundiques (Pevsner & Grossman, 1955; Olbe, 1963; Preshaw, 1970) ou la sensibilisation des cellules pariétales aux autres stimuli (Olbe, 1964 a et b). Les techniques mises en œuvre au cours de ce travail ne permettront pas de préciser si les doses d'anticholinergiques utilisées ont bloqué toutes les diversifications de l'action vagale, ou seulement certaines d'entre elles; les résultats ne pourront donc que traduire un blocage vagal plus ou moins intense, sans prétendre, en particulier, à déterminer l'action des substances sur la libération de gastrine dont Csendes & al. (1972) fixent le seuil, pour l'atropine (après injection sous-cutanée) vers des doses de 100 à 200 $\mu\text{g/kg}$. Une remarque supplémentaire concerne les stimulations vagales réalisées chez le Rat et le Chien par l'injection rapide d'insuline, ce qui provoque un pic sécrétoire. Le fait d'écarter le pic ne peut physiologiquement être interprété ni comme une inhibition de la seule stimulation due à l'hypoglycémie insulinaire, ni comme une suppression de la sécrétion basale. Les résultats doivent donc être présentés avec de grandes réserves, pour ce qui concerne leur interprétation; il est bien évident qu'ils conservent toutfois une valeur d'évaluation pharmacologique.

Quelles sont les déductions concernant le mécanisme d'action des substances anticholinergiques utilisées, qui peuvent être faites à partir des résultats expérimentaux issus des stimulations de la poche antrale du Chien? Il semble, en première analyse, que l'on doive immédiatement songer à un blocage par action topique de la libération de gastrine antrale. En effet, il a été déjà démontré que l'on peut inhiber la réponse sécrétoire à une libération antrale de gastrine en injectant l'atropine par voies intraveineuse ou sous-cutanée, chez le Rat (Johansson & al., 1971 a et b; Nasca & al., 1971), et même par la simple introduction, dans la poche antrale, d'une solution d'atropine (Gregory & Ivy, 1941; Lim & Mozer, 1950; Nyhus & al., 1960; Redford, 1963).

Toutefois, cette hypothèse d'action repose sur deux prémisses qu'il convient d'explorer: les substances agissent uniquement au contact de la muqueuse et sans composante d'action systémique due à un passage — même partiel — vers la circulation générale; les substances entraînent bien une hyposécrétion par hypogastrinémie.

La revue bibliographique a déjà apporté un élément de discussion de la première de ces deux propositions: *les ammoniums quaternaires franchissent beaucoup plus difficilement que les amines tertiaires la barrière digestive.*

Duchêne-Marullaz (communication personnelle) procédant par des marquages au ^{14}C du groupement méthyle rattaché à l'atome d'azote, n'a pu mettre en évidence, chez le rat à pylore lié, un franchissement gastrique décelable pour ces anticholinergiques; l'expérimentateur insiste cependant sur les limites de fiabilité de la technique qui ne permettent pas de distinguer, dans un bruit de fond toujours élevé, les impulsions supplémentaires éventuellement entraînées par une très petite quantité de substance radio-active. Il a pu être calculé que si le passage gastrique est 15 à 20 fois plus faible que le passage intestinal, une dose de N-méthyl scopolammonium de 5 mg/kg n'aurait, dans cette situation expérimentale, que doublé le niveau du bruit de fond moyen enregistré par le compteur à scintillations. Ceci n'aurait pas été statistiquement significatif, étant donné les fluctuations du niveau basal.

Et si, malgré tout, de très faibles quantités d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammoniums se retrouvaient dans la circulation générale après l'irrigation des poches antrales, quelle serait leur possibilité d'action? Yamaguchi & al. (1973) montrent que l'injection par voie intraveineuse d'une dose extrêmement faible (inférieure à 1 $\mu\text{g/kg}$!) d'atropine, provoque, chez le Chien, la diminution de moitié de la réponse sécrétoire d'une poche de Pavlov, à la stimulation par un repas d'épreuve. *Ce problème du passage antral paraît donc être décisif* si l'on veut contribuer à la connaissance du mécanisme d'action des anticholinergiques, dans le cadre de cette expérimentation. Duchêne-Marullaz & al. (1968) mettent en évidence une différence très nette entre les potentialités tachycardisantes du N-méthyl et du N-butyl scopolammoniums, administrés par voie orale, chez le chien vigile: le premier provoque une tachycardie importante dès la dose de 500 $\mu\text{g/kg}$, tandis que le second ne modifie absolument pas le rythme cardiaque à une dose vingt fois plus élevée. Ceci peut d'ailleurs être dû à une différence d'aptitudes à franchir la paroi digestive, ou bien à une différence d'affinités pour les récepteurs muscariniques cardiaques. En effet, dès 1965, la même équipe avait signalé la relative inefficacité du N-butyl scopolammonium pour

provoquer une tachycardie chez le Chien, même après une administration du produit par voie intraveineuse, puisqu'à la dose de 200 $\mu\text{g/kg}$ le rythme cardiaque a déjà retrouvé son niveau basal quinze minutes après l'injection.

D'un autre côté, chez la Souris, l'étude comparative de l'élimination du bromure de N-butyl scopolammonium et du méthylsulfate de N-méthyl scopolammonium marqués au ^{14}C , après administration par voie buccale à la dose de 5 mg/kg, montre que l'élimination moyenne globale (urinaire et fécale) est sensiblement comparable pour les deux dérivés (Duchêne-Marullaz & al., 1969). Enfin, Beermann & al. (1972) évaluent les possibilités de ce franchissement à 100 p. 100 pour l'atropine, 15 à 25 p. 100 pour le méthyl scopolammonium, et inférieures à 10 p. 100 pour son homologue butyle. Ces nuances prennent un intérêt particulier si l'on se souvient que le N-butyl scopolammonium, le composé exerçant la plus faible activité anticholinergique, est également le seul qui manifeste une activité antisécrétoire non proportionnelle à son activité anticholinergique, dans le cas expérimental qui retient actuellement notre attention.

Personnellement, nous pensons que l'hypothèse d'une résorption des substances à travers les zones de tissu cicatriciel qui se forme autour des canules, ou même à travers la paroi de la poche antrale n'est pas à écarter, car les solutions séjournent une heure dans celle-ci. Or, *l'absorption d'un composé, après administration orale, dépend du temps durant lequel il se trouve en contact avec les surfaces d'absorption* (Jusko & Lévy, 1967). Ainsi, le fait d'une administration au long cours d'oxyphencyclimine (Mozsik & al., 1969) ou de méthyl scopolamine (Holtz & al., 1970), qui ralentit la vidange gastrique et le péristaltisme intestinal, augmente l'absorption gastro-intestinale des substances. Enfin, Beermann & al. (1973) situent le niveau de résorption principale du N-méthyl scopolammonium dans la « partie la plus proximale du grêle ». La même équipe de chercheurs avait pu préciser, peu de temps auparavant (Beerman & al., 1971), *qu'un autre ammonium quaternaire, le méthylsulfate de bévonium (ACABEL*), voit l'essentiel de sa résorption se réaliser, chez l'Homme, au niveau duodénal, mais qu'une faible partie passe indiscutablement la barrière digestive au niveau gastrique.*

A ce stade de nos travaux, une petite expérimentation de contrôle nous a permis de vérifier que de faibles quantités d'atropine (10 $\mu\text{g/kg}$) et de N-méthyl scopolammonium (2,5 $\mu\text{g/kg}$) injectées par voie intraveineuse, étaient capables de bloquer rapidement l'action de la gastrine, lorsque celle-ci est bien installée. L'injection des substances anticholinergiques a eu lieu vingt minutes après que la perfusion de la solution de glycine dans la poche antrale ait débuté, toutes conditions expérimentales étant identiques, par ailleurs, à celles qui se trouvent précisées sur le tableau 44. Dans ce cas, le débit sécrétoire a rapidement baissé pour atteindre, en quelques minutes, un tarissement sub-total. En fait, cette expérimentation ne constitue qu'une vérification de l'activité des anticholinergiques puissants, à faible dose, sur la sécrétion d'une poche de Heidenhain stimulée à la fois par la gastrine endogène et un cholinomimétique. En effet, ces résultats ne permettent pas d'affirmer que l'on a bloqué la libération de gastrine provoquée par la glycine, la distension (Grossman, 1961), ou le carbachol lui-même (Andersson, 1960), que l'on a simplement freiné la sensibilisation des cellules fundiques par le carbachol, ou même (pourquoi pas?) que l'on a inhibé l'action de la gastrine

au niveau des effecteurs cellulaires. *Nous avons alors tenté, par des méthodes n'utilisant pas les radio-isotopes, de rechercher les preuves d'un passage des substances parasympholytiques au niveau de l'étagé gastrique. C'est la technique du sac gastrique de rat éversé, selon Crane & Wilson (1958) qui a été tout d'abord utilisée avec quelques modifications. Des estomacs prélevés sur des rats sacrifiés par rupture bulbaire sont éversés en doigt de gant, après ligature du pylore, et placés dans une solution de Tyrode (1910). Un fin cathéter inséré dans l'orifice du cardia permet d'introduire 3 ml de la même solution de survie dans l'intérieur du sac ainsi constitué, donc du côté de la séreuse. Des solutions 1.10^{-4} M d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammoniums sont ajoutées dans la cuve du côté de la muqueuse.*

L'activité anticholinergique éventuelle de prélèvements ($1/10^{\circ}$ ml) effectués toutes les dix minutes du côté de la séreuse est dosée par la méthode biologique classique (inhibition de la contraction du jéjunum de rat provoquée par l'acétylcholine 1.10^{-5} M/l). Toutes les expérimentations effectuées selon ce protocole ont *mis en évidence un passage d'atropine et de N-méthyl scopolammonium suffisant pour inhiber de 50 à 70 p. 100, au bout de 30 à 60 minutes, l'action de l'acétylcholine. Avec le N-butyl scopolammonium, aucun passage similaire ne peut être mis en évidence. Afin de contrôler la nature de la substance à activité anticholinergique qui se trouve dans l'échantillon prélevé dans le sac gastrique, une identification chromatographique a été entreprise pour le cas du N-méthyl scopolammonium. Le résultat (figure 55) ne prête à aucune équivoque : c'est bien le produit lui-même que l'on retrouve après franchissement de la muqueuse; il n'a subi aucune transformation.*

Cette précaution peut paraître inutile. En fait, utilisant la même technique des sacs constitués par des fragments intestinaux prélevés sur le Rat puis éversés, Selhub & al. (1973) ont constaté que certaines substances se trouvent métabolisées au cours du passage à travers le tractus digestif.

Nous avons également recherché la preuve d'un passage des mêmes substances anticholinergiques chez le Chien anesthésié. Le critère d'appréciation de l'activité systémique des composés (introduits dans l'estomac à pylore lié) est constitué par la levée de l'hypotension consécutive à l'excitation électrique du nerf pneumogastrique. Quelques exemples de tracés obtenus, rassemblés sur la figure 56 montrent qu'il n'y a eu aucune action vagolytique systémique décelable par cette technique. Cependant, d'importantes critiques limitent encore l'intérêt de cette méthode : la stimulation électrique du nerf pneumogastrique entraîne une hypotension sévère, et il est bien connu que l'anesthésie diminue considérablement tous les processus de résorption au niveau du tube digestif.

Une ultime recherche de la preuve de la possibilité de passage d'anticholinergiques au niveau gastrique, chez le Chien vigile, a consisté à enregistrer l'électrocardiogramme des animaux porteurs de la préparation chirurgicale permanente (poche antrale + poche de Heidenhain). Un enregistrement de contrôle (une heure) a précédé la perfusion des différentes solutions dans la poche antrale, pendant une heure, dans les mêmes conditions que précédemment. L'enregistrement s'est encore poursuivi pendant une heure après l'arrêt de la perfusion.

FIGURE 55

Identification chromatographique du N-méthyl scopolammonium après franchissement de la paroi gastrique



Conditions expérimentales :

- Estomac isolé de rat.
- Couches de gel de silice (Schleicher u. Schull F, 1500, LS 254).
- Solvant : $n\text{-BuOH}/\text{CH}_3 - \text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4/1/5) phase supérieure.
- Migration : 10 cm.
- Révélateur : réactif de Dragendorf [in *Handbook of Chromatography*, 11, 113, Zweig and Sherma Ed., Cleveland, 1972].

Légende :

- A - Témoin N-méthyl scopolammonium (côté muqueuse gastrique).
- B - Liquide prélevé (côté de la séreuse gastrique).
- C - Mélange de N-méthyl scopolammonium et du liquide prélevé (côté de la séreuse gastrique).

Pour des solutions de N-méthyl scopolammonium, d'atropine et de N-butyl scopolammonium utilisées à des concentrations respectives de 10 mg, 40 mg et 1 g par litre, aucune élévation de la fréquence des battements cardiaques n'a été observée. En revanche, dès que la concentration d'atropine et de N-méthyl scopolammonium atteint 200 à 300 mg par litre, le rythme des battements passe de 80 pulsations/mn à 150 pulsations/mn dans les trente minutes qui suivent le début de la perfusion. Des solutions de N-butyl scopolammonium qui exerceraient une activité anticholinergique de niveau comparable atteindraient des concentrations supra-pharmacologiques et n'ont pas été réalisées.

Le passage de l'atropine et du N-méthyl scopolammonium vers la circulation générale, dans les conditions expérimentales observées ci-dessus, est donc bien une réalité. L'intensité de ce passage a d'ailleurs été suffisant pour entraîner un effet au niveau cardiaque; or,

FIGURE 56



*Recherche de passage de l'atropine et des N-méthyl et N-butyl
scopolammoniums dans la circulation générale,
après administration intra-gastrique chez le Chien anesthésié
à pylore lié*

la dose-seuil d'atropine qui, injectée par voie intraveineuse engendre une tachycardie chez le Chien, est évaluée à 40 $\mu\text{g/kg}$. Ceci constitue un seuil élevé puisqu'il suffit d'une dose inférieure à 1 $\mu\text{g/kg}$ pour diminuer nettement la réponse sécrétoire de la poche de Pavlov, ainsi que cela a été rappelé ci-dessus (Yamaguchi & al., 1973). En d'autres termes, les cellules sécrétantes des glandes fundiques sont beaucoup plus sensibles à la présence d'anticholinergiques que les cellules du muscle cardiaque. Cela signifie qu'un passage de substance anticholinergique, pour des concentrations inférieures à celles qui se sont révélées tachycardisantes au cours de la présente expérimentation, a pu exercer une inhibition effective au niveau de la sécrétion gastrique.

Après les travaux initiaux effectués sur le Chien (Gregory & Ivy, 1941; Lim & Mozer, 1950; Nyhus & al., 1960; Redford, 1963) démontrant le blocage de la libération de gastrine provoqué par l'introduction d'atropine dans la poche antrale isolée, des travaux plus récents réalisés chez l'Homme par Kaess (1971), Korman & al. (1971) et Walsh & al. (1971) ont laissé entrevoir que l'atropine pourrait accroître, en fait, la libération de gastrine dans le cas particulier d'une période post-prandiale, et ceci bien qu'elle inhibe en même temps la sécrétion chlorhydrique. Becker & al. (1973 a) confirment le fait que l'atropine augmente de façon significative le taux de gastrine sérique, en réponse à l'ingestion de nourriture, chez l'homme. Ceci pourrait être dû soit à la suppression de l'inhibition de la libération de gastrine antrale qui se produit normalement à la suite de l'acidification antrale, soit à la diminution de la motilité gastrique et à la stase antrale des aliments. Farooq & Walsh (1974) constatent la même augmentation de la gastrinémie, chez l'Homme, après un traitement par l'atropine, concomitant à une stimulation insulínique.

Cependant, dans le même temps, il est démontré que l'atropine diminue significativement le niveau basal de gastrine sérique chez l'Homme (Ganguili & Hunter, 1972; Becker & al., 1973 a).

Qu'en est-il exactement chez le Chien, dans le cas de la situation qui a été choisie? *Quelques dosages de gastrine ont été effectués sur des échantillons de sérum sanguin prélevés sur le même animal lors de deux expérimentations de contrôle (stimulation systémique par le carbachol + stimulation antrale par la glycine) et de deux expérimentations comportant une irrigation préalable de la zone antrale par la solution de N-méthyl scopolammonium.* Le travail a été réalisé en collaboration avec J.P. Accary (INSERM, U 10), spécialiste de ces dosages radio-immunologiques. Les résultats enregistrés sont reportés sur les tableaux 60 et 61; les taux de gastrine sérique oscillent, à l'état basal, entre 11 et 22 pg/ml, ce qui correspond assez bien à la valeur moyenne de 12 ± 3 pg/ml déterminée chez le chien Beagle par Gramatica & al. (1973 a).

L'observation attentive des tableaux 60 et 61 nous permet de souligner, chez cet animal, et dans les conditions expérimentales qui viennent d'être précisées, quelques constatations importantes :

1) *Les injections par voie sous-cutanée de carbachol, à des doses supra-liminales, n'ont pas élevé la gastrinémie basale, et ceci dans toutes les séries expérimentales.* Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Sjodin & Nilsson (1973) qui montrent que la stimulation par le bétanécól stimule la sécrétion gastrique du Chien sans affecter la gastrinémie.

TABLEAU 60

Variations comparées de la gastrinémie et du débit sécrétoire de la poche fundique après perfusion de glycine et de N-méthylscopolammonium dans la poche antrale.

I. EXPERIMENTATION DE CONTROLE.

Situation expérimentale		N° des recueils (15 mn)	Paramètres		
			Gastrinémie (pg/ml)	Débit de la poche fundique (15 mn)	
				Acide (μ Eq/15 mn)	Pepsinique (μ Moles T.)
Basale		— 2	19	0	0
		— 1	11	0	0
Carbachol (S.C.) 4 μ g/15 mn	—	1	24	0	0
		2	13	40	1,26
		3	20	90	6,37
		1 h 4	16	110	4,08
		5	14	170	2,4
		6	17	140	1,44
		7	13	200	7,65
		8	24	150	7,96
	3 h	2 h			
		9	24	260	3,08
		10	28	260	8,4
		11	27	220	6,08
		12	22	260	7,22
	4 h	3 h			
		13	41	370	5,04
		14	41	400	8,5
		15	38	360	2,99
		16	54	440	4,08
	5 h	4 h			
		17	32	390	7,02
		18	25	420	6
		19	45	400	6,96
		20	31	440	9

μ Eq : micro-équivalents d'ions H^+ . μ Moles T : micro-moles de tyrosine.

TABLEAU 61

Variations comparées de la gastrinémie et du débit sécrétoire de la poche fundique après perfusion de glycine et de N-méthyl scopolammonium dans la poche antrale.

II. PERFUSION PREALABLE DE N-METHYL SCOPOLAMMONIUM DANS LA POCHE ANTRALE.

Situation expérimentale		N° des recueils (15 mn)	Paramètres		
			Gastrinémie (pg/ml)	Débit de la poche fundique (15 mn)	
				Acide (μ Eq/15 mn)	Pepsinique (μ Moles T.)
Basale		— 2	22	0	0
		— 1	20	0	0
Carbachol (S.C.) 4 μ g/15 mn	—	1	27	0	0
		2	25	0	0
		3	10	20	1,48
		1 h 4	17	90	9,5
		5	16	20	1,9
		6	18	90	6,2
		7	17	130	8,5
		8	17	150	8,58
	Perfusion de N.M.S. (10 mg/l) dans la P.A.	2 h			
		9	27	110	4
		10	22	140	0,8
		11	16	250	1,32
		12		70	0
	Perfusion de glycine (30 g/l) dans la P.A.	3 h			
		13	inférieur à 5	0	0
		14	18	15	0
		15	17	90	3,52
		16	17	0	0
	—	4 h			
		17	18	10	0,5
		18	20	0	0
		19	29	0	0
		20	14	0	0
	5 h				

N.M.S.: N-méthyl scopolammonium.

μ Eq: micro-équivalents d'ions H⁺.

μ Moles T: micro-moles de tyrosine.

Ces résultats rejoignent également les conclusions de Deblois & Bremer (1963) et de Limbosch (1972) qui, dans des conditions très différentes, montrent que la participation des influx cholinergiques d'origine centrale ou périphérique aux mécanismes de libération antrale de gastrine est négligeable chez le Chien vigile.

2) La simple perfusion d'une solution 0,154 M de NaCl dans la poche antrale, dans les conditions où elle a été réalisée, paraît provoquer une légère augmentation du taux de gastrine sérique; mais celle-ci ne semble pas significative.

3) La perfusion de la solution de glycine dans la poche antrale a nettement élevé le niveau de la gastrinémie. L'hypergastrinémie est toujours d'installation rapide; elle correspond bien à l'hyper-sécrétion acide de la poche fundique dont le débit se trouve multiplié par 2 à 3, et semble donc exercer une bonne stimulation des cellules pariétales. En revanche, les cellules principales des glandes fundiques paraissent très peu sensibles à cette libération accrue de gastrine (le débit pepsinique ne se trouve pas significativement modifié au cours de ces expérimentations complémentaires).

4) Le N-méthyl scopolammonium a empêché l'apparition du pic gastrinique sérique mais n'a pas abaissé la gastrinémie au-dessous de sa valeur de base.

5) Le N-méthyl scopolammonium a nettement inhibé la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain, qui s'est trouvée pratiquement totalement supprimée à l'issue de la perfusion de la solution d'anticholinergique.

Ces constatations permettent d'avancer — très prudemment puisqu'elles ne sont relatives qu'à un faible échantillon expérimental — quelques déductions concernant à la fois le mécanisme d'action de la substance vagolytique, et la physiologie de la sécrétion gastrique du Chien :

1 - La perfusion d'une solution de N-méthyl scopolammonium, dans la poche antrale du Chien, inhibe la libération de gastrine provoquée par une stimulation des chemorécepteurs antraux par la glycine (dont l'action est peut-être favorisée par les injections simultanées de carbachol); en aucun cas, cette perfusion — dans les conditions où elle a été réalisée — n'a fait baisser la gastrinémie au-dessous d'un seuil basal permanent.

2 - Le N-méthyl scopolammonium passe dans la circulation générale pour bloquer l'action du carbachol au niveau des effecteurs glandulaires fundiques. En effet, la sécrétion acide se trouve totalement bloquée, tandis que le taux de gastrine sérique se maintient à son niveau basal. Des résultats comparables ont été obtenus par Csendes & al. (1972) qui trouvent l'atropine plus efficace pour inhiber la sécrétion acide que pour freiner la libération de gastrine. Ceci pourrait expliquer que si une faible quantité d'anticholinergique exerce une action systémique, elle peut très bien bloquer totalement la réponse acide d'une poche fundique énervée entraînée par de petites doses de cholinomimétique, sans bloquer corrélativement en totalité la libération de gastrine. Becker & al. (1973 b) aboutissent exactement aux mêmes résultats après acidification antrale.

Mais ne pourrait-on penser, également, que le niveau « irréductible » de gastrine sérique a une origine duodénale? Cette hypothèse

n'est pas à écarter; il est possible, enfin, que des cellules gastrino-sécrétantes se soient trouvées exclues des limites de la poche antrale.

L'évocation des travaux de Becker & al. (1973 b) qui vient d'être faite, oriente la discussion vers une comparaison des résultats obtenus après perfusion de N-méthyl scopolammonium et après perfusion d'une solution tampon à pH 1,5 dans la poche antrale. Woodward & al. (1954) ont montré que la réponse acide à la libération de gastrine provoquée par une stimulation chimique de l'antra se trouve inhibée lors de son acidification. Depuis, de nombreux travaux ont précisé le rôle inhibiteur de l'acidité du suc gastrique lui-même (Uvnas & al., 1956; Woodward & al., 1957 b; Andersson & al., 1958; Nyhus & al., 1960; Johnson & al., 1960). Enfin, les travaux de Longhi & al. (1957), Gillespie et Grossman (1962), Landor & Ross (1962), Andersson & Olbe (1964 b) ont établi que l'acidification antrale provoque une inhibition de la sécrétion acide par suppression de la libération de gastrine. Ces conclusions s'opposent à celles d'autres chercheurs, dont Jordan (1957) et Thompson (1962), qui pensent que l'acidification provoque en fait la libération d'une chalone, hormone inhibitrice de la sécrétion acide.

Cependant, si l'on admet qu'entre pH 1 et pH 2 se trouve totalement bloquée la libération de gastrine provoquée par une perfusion antrale d'acétylcholine (Schofield, 1966) et même par tous les autres stimuli (Andersson & Elwin, 1971), *il faut admettre qu'un autre type d'inhibition que celui de la libération de gastrine se trouve réalisé par l'irrigation antrale d'anticholinergiques*; en effet, la courbe du débit sécrétoire acide de la poche de Heidenhain enregistré au moment d'une perfusion d'une solution à pH 1,5 dans la poche antrale traduit toujours une réponse sécrétoire supérieure à celle qui est obtenue lorsque la solution d'anticholinergique baigne la zone antrale (figures 42 à 45 et 48 à 51 relatives aux chiens AH_{2a} et AH_{2b}).

Ces observations confirment les résultats précédents et ne peuvent s'expliquer que par le passage antral des anticholinergiques dans la circulation générale... ou la libération d'une chalone antrale. La levée de cette dernière hypothèse a été possible après utilisation d'une solution d'anesthésique local, non suspectée de pouvoir libérer une chalone antrale. Posey & al. (1969 et 1971), après les travaux de Woodward & al. (1954 et 1958) ont prouvé que les anesthésiques locaux appliqués sur l'antra isolée du chien diminuaient la réponse sécrétoire gastrique en inhibant la libération de gastrine.

Nous avons donc *perfusé dans l'antra de trois animaux une solution à 2 p. 100 de lignocaine : l'inhibition de la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain, après perfusion d'une solution de glycine ne s'est trouvée réduite que de 50 à 70 p. 100, et non pas totalement comme dans le cas d'une perfusion d'anticholinergique puissant*. Enfin, une contre-épreuve a été effectuée sous la forme d'une perfusion par voie intraveineuse, simultanément à l'action de l'anticholinergique, de pentagastrine. La dose choisie de 6 µg/kg/h devait, selon Williams & al. (1969), Stening & Grossman (1970 a), Troidl (1973), Lin & al. (1973), entraîner une réponse sécrétoire très nette, à cause de la potentialisation par le carbachol. Or, cette réponse fut infime, ce qui montre bien que *le carbachol était lui-même antagonisé*. On ne peut, en effet, suspecter une trop grande différence de potentialisation réalisée par le carbachol sur, d'une part la gastrine, d'autre part la pentagastrine, puisque Varro & al. (1971) ont confirmé le

phénomène de potentialisation vraie, au niveau de la poche de Heidenhain, chez des chiens traités simultanément par un cholinomimétique et la pentagastrine.

En conclusion des travaux réalisés sur le chien porteur d'une poche antrale associée à une poche de Heidenhain, quelques constatations peuvent être soulignées :

1) *Les anticholinergiques perfusés dans la poche antrale ont tous inhibé la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain.* Aux doses utilisées, *l'inhibition n'a été très significative, voire sub-totale, qu'avec les anticholinergiques les plus puissants* (atropine et N-méthyl scopolammonium). Le N-butyl scopolammonium bloque cependant l'hyper-sécrétion consécutive à la stimulation antrale.

2) *Le N-méthyl scopolammonium diminue dans le même temps, la libération de gastrine induite par la glycine ou une solution alcaline, et ramène le taux de gastrine sérique au niveau basal.*

3) *L'action tachycardisante qui résulte du passage dans la circulation générale d'une partie des substances anticholinergiques introduites dans la poche antrale n'a pu être démontrée que pour des concentrations plus élevées que celles qui furent utilisées pour inhiber la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain. Cependant, un tel passage existe indiscutablement.*

4) *Un antagonisme direct entre la gastrine et les anticholinergiques n'est pas à exclure* (Odori & Magee, 1969; Borsy & al., 1970), *mais l'inhibition du tonus cholinergique entretenu par le carbachol au niveau de la poche fundique paraît être plus probable.*

De la même façon que la sécrétine n'inhibe pas la sécrétion gastrique seulement parce qu'elle diminue la libération de gastrine (Gramatica & al., 1973 b), les anticholinergiques puissants placés dans la poche antrale du Chien pourraient également supprimer la réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain à une stimulation antrale par deux mécanismes : *l'inhibition de la libération de gastrine au niveau antral et l'antagonisme des stimuli potentialisateurs cholinergiques au niveau fundique.*

L'importance du degré de potentialisation exercée par des influx cholinergiques sur une stimulation gastrinique faible (Andersson & Olbe, 1964 a; Passaro & Grossman, 1964; Andersson & Grossman, 1965; Heathcote & al., 1965) a été confirmée par Limbosch (1972). Celui-ci montre que la contribution des influx cholinergiques aux sécrétions d'acide et de pepsine est particulièrement importante lorsque l'intensité de la stimulation gastrinique reste faible. Or, dans la situation expérimentale du chien à poche antrale énervée, et comme le montrent les tableaux 60 et 61, la libération de gastrine que nous provoquons ne dépasse jamais 54 pg/ml. D'autre part, il a été vérifié que la suppression des injections de carbachol entraînait l'absence de réponse sécrétoire de la poche fundique à la suite d'une perfusion de stimulant (glycine ou solution à pH 9,2) dans l'antré énervé. C'est donc que notre expérimentation se situe tout à fait dans le cadre d'une « stimulation gastrinique faible » telle que l'évoque Limbosch. La contribution du stimulus constitué par les injections répétées du cholinomimétique doit être très grande, ce qui explique qu'un *blocage de cette potentialisation par les anticholinergiques entraîne une inhibition sub-totale de la réponse sécrétoire fundique.*

IV.C. — PARALLELISMES ET DIVERGENCES ENTRE LES ACTIVITES ANTICHOLINERGIQUES ET ANTISECRETOIRES : DISCUSSION DES DIFFERENTES HYPOTHESES EXPLICATIVES.

La constatation d'un certain parallélisme mais également de nombreuses distorsions entre l'échelle des concentrations d'atropine, de N-méthyl et de N-butyl scopolammoniums exerçant, *in vitro*, une équi-activité anticholinergique et l'échelle des doses de ces mêmes substances qui induisent, *in vivo*, une équi-activité antisécrétoire, engendre évidemment, la formulation de quelques hypothèses explicatives. Les cinq hypothèses les plus plausibles (ou qui se rapportent à des axes de recherches particulièrement importants) ont retenu notre attention et vont être discutées de façon critique, en fonction des résultats présentés.

IV.C.₁ — EQUIPEMENT EN RÉCEPTEURS MUSCARINIQUES DIFFÉRENT SELON LES EFFECTEURS BIOLOGIQUES OU SELON LES ESPÈCES.

L'hypothèse de récepteurs cholinergiques particuliers à la cellule sécrétante de l'estomac et légèrement différents des autres récepteurs du même type a été avancée par de nombreux auteurs. Dès 1956, Kao Hwang pense que les récepteurs cholinergiques ne sont pas également sensibles aux anticholinergiques, lesquels pourraient avoir une action sélective sur des fonctions cholinergiques particulières, comme celle du récepteur chimio-sensible antral. La différence de spécificité des organes innervés par le nerf vague, pour les substances cholinergiques, est également invoquée par Kubin & al. (1967). Les travaux plus récents de Doss et van Zwieten (1971 et 1972) conduisent les auteurs à constater que les récepteurs cholinergiques impliqués dans la production d'acide gastrique ne sont ni du type muscarinique, ni du type nicotinique, comme l'on peut en rencontrer dans d'autres organes (cœur, iléon, vaisseaux sanguins). Les récepteurs cholinergiques des cellules pariétales seraient d'un nouveau type, différent des types classiques et constitueraient donc un troisième groupe, bien individualisé, de récepteurs cholinergiques. Barlow & al. (1972) précisent que si les différences observées entre divers types de récepteurs cholinergiques post-ganglionnaires existent vraiment, elles se limitent au remplacement d'un amino-acide de la protéine réceptrice par un homologue. Ces différences minimes, qui permettraient de classer plusieurs variantes de structures réceptrices dans le même groupe de récepteurs pharmacologiques muscariniques, seraient même plus subtiles, dans le cas de l'iléon de cobaye : selon Jacob & Gero (1973), l'anion du récepteur serait entouré de deux groupes anioniques supplémentaires qui modifieraient l'activité d'une substance muscarinique. Ces deux anions seraient disposés de telle façon que l'un d'eux générerait tandis que l'autre favoriserait la disposition optimale d'une substance sur le récepteur. Toutes ces études montrent donc qu'une variété de récepteurs cholinergiques, insoupçonnée voici quelques années, pourrait effectivement expliquer la variabilité des seuils d'action des substances selon les effecteurs. Cette même notion

expliquerait également que trois composés, dénués de toute activité parasympatholytique systémique, étudiés par Pascaud et Devys (1973), puissent exercer une action antimuscarinique qui se porte électivement sur les récepteurs de la sécrétion gastrique.

Nous ne pensons pas qu'une éventuelle différence d'équipement, selon les organes, en récepteurs muscariniques, pourrait expliquer les distorsions qui ont été observées parmi les résultats exposés précédemment. En effet, il faudrait non seulement imaginer que les récepteurs muscariniques de l'estomac de Rat sont différents des récepteurs cholinergiques du jéjunum du même animal, mais encore que ces derniers sont identiques aux récepteurs de l'estomac du Chien. Tout cela nous paraît fort improbable. En outre, comment expliquerait-on que ce ne soit pas les mêmes récepteurs de la muqueuse gastrique du Rat qui entrent en jeu dans le cas de la stimulation insulínique, de la contrainte ou de la ligature du pyllore?

L'une des preuves pharmacologiques de l'identité des récepteurs muscariniques du jéjunum et de l'estomac de Rat pourrait provenir de l'étude de l'interaction des anticholinergiques et des cholinomimétiques sur un estomac isolé. La comparaison des types d'antagonismes et des pA_2 obtenus avec ceux qui furent enregistrés en utilisant le jéjunum constituerait l'un des moyens classiques du rapprochement des récepteurs de ces deux organes. Malheureusement, la technique de l'estomac isolé de rat, qui pourrait s'inspirer des travaux de Durbin & Thorpe (1970), de Spencer (1973) et de Dretler & al. (1974) n'est pas vraiment au point. Nous ne sommes pas encore parvenus à obtenir une bonne relation entre la dose de cholinomimétique et la réponse sécrétoire, sur une telle préparation.

À côté de l'hypothèse d'équipements en récepteurs cholinergiques post-ganglionnaires différents selon l'effecteur (jéjunum/estomac, par exemple), on peut également imaginer que l'une des causes du non-parallélisme existant entre certaines séquences de résultats réside dans la différence de nature de ces récepteurs chez le Rat et chez le Chien. *Pour vérifier cette hypothèse, une détermination de l'activité anticholinergique a été entreprise sur l'intestin de Chien.* Après plusieurs essais et tâtonnements, nous avons utilisé des fragments circulaires de duodénum de Chien, qui se sont révélés être les plus contractiles, et les avons placés dans une solution de Tyrode éserinée, l'acétylcholine étant l'agoniste. Les résultats sont reportés sur les figures 57, 58 et 59.

Les pentes des droites de régression de Y en X, telles que :

$$Y = \log. (x - 1)$$

et $X = [\text{concentrations molaires d'antagoniste}]$,

non significativement différentes de la pente 1, confirment le caractère compétitif de l'antagoniste; ceci apparaissait déjà à l'observation du déplacement parallèle des courbes concentration-effet de l'acétylcholine par les trois substances, sans dépression de l'effet maximal de l'agoniste.

Les pA_2 apparents, constantes de dissociation apparentes du complexe formé par le récepteur et les antagonistes, déterminées selon Arunlakshana & Schild (1959) sont de 9,16, 7,75 et 6,21 pour respectivement, le N-méthyl scopolammonium, l'atropine et le N-butyl scopolammonium. Toutefois, comme les pentes des droites de régression sont tantôt supérieures, tantôt inférieures à la pente 1, leurs

Duodénum de Chien

- a) Courbes doses-réponses de l'acétylcholine en présence d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammoniums
 b) Détermination du pA_2 apparent de l'antagoniste, selon Arunlakshana et Schild (1959)

Légende :

E_{AB}/E_m : contractions enregistrées après introduction de diverses concentrations de l'agoniste A pour une concentration fixe de l'antagoniste B. L'amplitude des contractions est exprimée en « pour cent » de l'amplitude maximale.

[A] : concentration de l'agoniste A (moles/l).

[B] : concentration de l'antagoniste B (moles/l).

$x = \frac{A}{a}$: rapport des concentrations d'agoniste en présence (A) ou en absence

(a) d'antagoniste, nécessaires pour obtenir la même fraction de l'effet maximal.

pA_2 apparent (ou $-\log K_{RB}$ apparent) : paramètre représentatif de l'affinité apparente de l'antagoniste B pour le récepteur R.

FIGURE 57

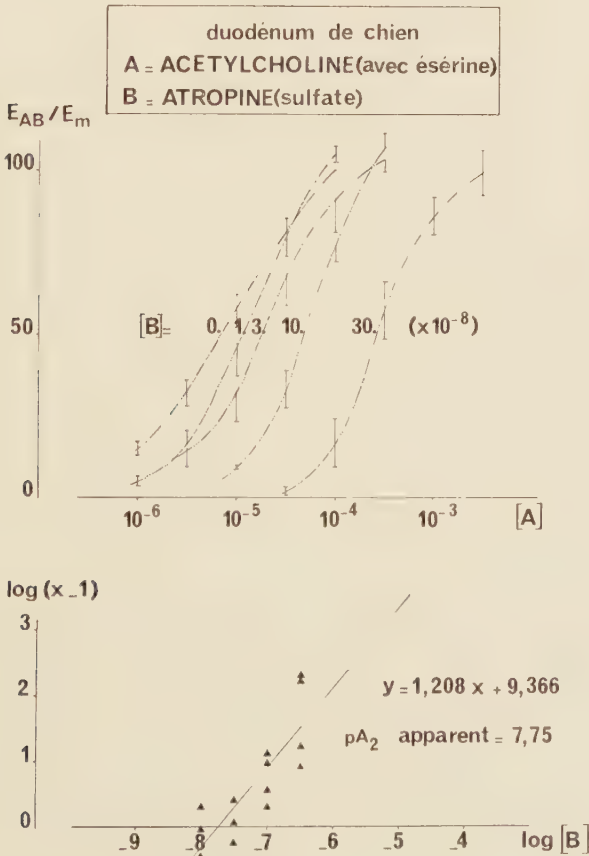


FIGURE 58

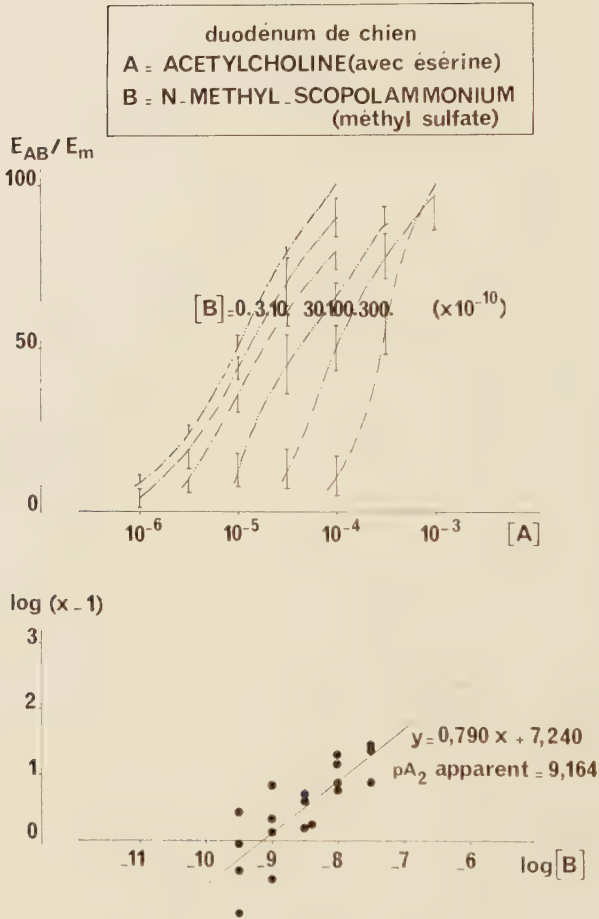
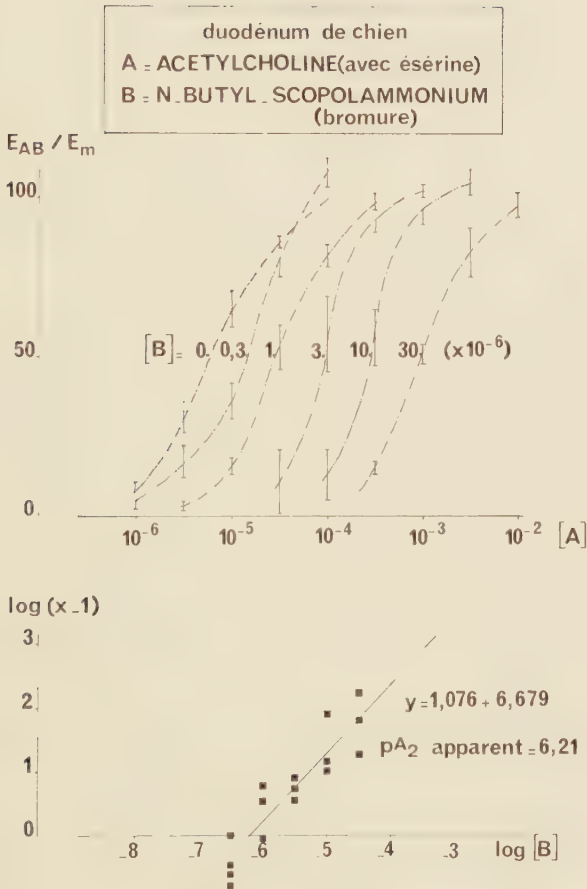


FIGURE 59



écarts sont assez importants; c'est pourquoi nous avons préféré utiliser la méthode de calcul des pA_2 préconisée par van Rossum (1963) plutôt que cette détermination graphique.

Les valeurs moyennes de pA_2 sont alors de :

- $8,91 \pm 0,078$ pour le N-méthyl scopolammonium;
- $8,00 \pm 0,138$ pour l'atropine;
- $6,33 \pm 0,096$ pour le N-butyl scopolammonium.

Ces valeurs moyennes ne sont pas significativement différentes de celles qui avaient été déterminées en utilisant le jéjunum de Rat (partie III.B.₃) et qui figurent sur le tableau 59. *Ainsi, d'après le principe fondamental de Schild (1947) il y a une très forte probabilité pour que les récepteurs muscariniques du jéjunum de Rat et du duodénum de Chien soient identiques.*

IV.C.₂ — RÉCEPTEUR MUSCARINIQUE UNIQUE, MAIS DONT LES CARACTÉRISTIQUES DE COOPTATION AVEC LES SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES SERAIENT MODIFIÉES SELON LA SITUATION EXPÉRIMENTALE.

Une telle hypothèse pourrait naître à la suite d'observations similaires à celle qui fut rapportée récemment par Masevich & al. (1974). Chez des malades gastritiques, les auteurs notent que l'inhibition exercée par l'atropine sur le débit acide paraît être plus élevée lorsque la sécrétion se trouve stimulée que dans le cas d'une sécrétion basale. Ceci évoque, évidemment, le blocage d'une participation vagale plus ou moins importante selon les conditions expérimentales... aussi bien qu'une modification de l'affinité des récepteurs cholinergiques pour l'atropine.

A la vérité, cette hypothèse ne tient pas devant la simple observation des résultats enregistrés chez le Rat et le Chien après la stimulation vagale insulinique : chez une espèce le rapport des doses équivalentes, pour les trois anticholinergiques, est identique au rapport des concentrations équivalentes établi in vitro; chez l'autre espèce, ce rapport est différent. Il faudrait donc supposer que pour une situation expérimentale strictement identique deux espèces voient leurs récepteurs muscariniques être modifiés de façon différente. Ceci paraît fort peu vraisemblable.

IV.C.₃ — ACTIVITÉ ANTISÉCRÉTOIRE INDÉPENDANTE DE L'ACTIVITÉ ANTICHOLINERGIQUE ET COMPLÉTANT CELLE-CI POUR ENTRAÎNER UNE ACTIVITÉ ANTISÉCRÉTOIRE GLOBALE.

L'idée d'une activité antisécrétoire totalement indépendante de l'activité anticholinergique et se surajoutant à cette action vagolytique pour concourir à l'inhibition de la sécrétion gastrique a été défendue par Lieber (1957). L'auteur montre qu'il y a dissociation entre l'activité antisécrétoire de l'atropine, l'oxyphénonium et la

propanthéline, et leur activité tachycardisante relative. L'absence de proportionnalité entre les actions des trois substances peut également être constatée, dans le cadre de la sécrétion gastrique, si l'on pratique une stimulation insulinique ou une stimulation histaminique chez le Rat ou chez le Chien. L'auteur pense que ces anticholinergiques ont probablement, « outre leur propriété parasympatholytique, une propriété antisécrétoire distincte de la précédente, s'exerçant au niveau de l'estomac lui-même, par exemple directement sur les cellules sécrétoires, au même titre éventuellement que l'histamine ».

Des travaux récents, réalisés par Durbin & Thorpe (1970), sur la muqueuse gastrique isolée de grenouille, indiquent que l'atropine n'agit pas seulement en bloquant l'activité du tonus vagal qui entraîne une libération permanente d'acétylcholine à l'extrémité des fibres nerveuses situées au voisinage des cellules pariétales; l'atropine posséderait plusieurs sites d'action discrets, tout au moins sur la préparation utilisée. Ces observations pourraient être interprétées dans le cadre de la théorie de Lieber.

Il est également indispensable d'évoquer ici quelques possibilités de mécanismes d'action qui pourraient éventuellement s'appliquer à cette activité complémentaire des substances antimuscariniques :

— La possibilité d'une activité ganglioplégique, déjà mise en évidence pour l'atropine et même le N-butyl scopolammonium (Innes & Nickerson, 1970) a été vérifiée pour le N-méthyl scopolammonium. Le produit n'inhibe absolument pas la contraction de la membrane nictitante du Chat provoquée par l'excitation, au niveau du ganglion cervical supérieur de la fibre ortho-sympathique préganglionnaire, et ceci malgré l'administration par voie intraveineuse d'une dose très élevée (figure 60). Le produit n'exerce donc pas d'activité ganglioplégique notable jusqu'à une dose supérieure de 200 fois à celle qui fut utilisée lors des essais d'activité antisécrétoire. Ce résultat est confirmé par Kasahara & al. (1971). Il semble impossible que cette activité intervienne dans l'inhibition de la sécrétion gastrique puisque le parallélisme d'activités antisécrétoire et anticholinergique se trouve toujours respecté entre le N-méthyl scopolammonium et l'atropine.

— Peut-on songer à un antagonisme direct de l'action de la gastrine au niveau des cellules fundiques? Ceci n'a pas, à ce jour, pu être mis en évidence, bien que Borsy & al. (1970) inhibent les contractions de l'intestin isolé de Cobaye provoquées par la pentagastrine à l'aide d'atropine et de méthanthéline. Bennett (1965), étudiant in vitro la contraction de l'iléon de Cobaye en réponse à la gastrine, vérifie l'hypothèse selon laquelle la gastrine stimulerait elle-même les cellules ganglionnaires au niveau de sites récepteurs distincts des sites nicotiniques; l'influx serait transmis aux cellules sécrétantes du fundus par l'acétylcholine elle-même, selon Limbosch (1972). On comprendrait ainsi comment l'atropine bloque l'action de la gastrine, bien que l'auteur n'écarte pas la possibilité d'un effet antagoniste de l'atropine au niveau de sites récepteurs qui seraient communs aux parasympatholytiques et à la gastrine.

Néanmoins, Schofield & al. (1974) montrent que l'inhibition par l'atropine de la réponse acide à la gastrine serait le résultat de son activité anticholinergique, plutôt que la conséquence d'effets non spécifiques.

— Il faut également signaler la possibilité d'une action des substances sur la perméabilité de la muqueuse du fundus et de l'antrum. Rudick & al. (1970), utilisant des chiens à poches antrales et fundiques, constatent que l'atropine augmente la fuite d'ions H^+ dans les deux types de poches. D'après les auteurs, ces résultats suggèrent que l'atropine exerce un effet direct sur la muqueuse gastrique, modifiant sa capacité à contenir des solutions acides; la chute du débit gastrique après traitement par l'atropine, pourrait donc résulter d'une action vagolytique, et dans une moindre proportion, d'une fuite d'ions H^+ à travers la muqueuse.

— Enfin, la réduction de l'activité enzymatique de l'ATP-ase membranaire (Durbin & Thorpe, 1970) pourrait constituer un mécanisme d'inhibition non spécifique de la sécrétion acide, pour les concentrations élevées d'atropine. Toutefois, Mozsik & al. (1972) relie directement cette action à la potentialité anticholinergique puisqu'ils trouvent une corrélation significative entre l'activité de l'ATP-ase membranaire de la muqueuse gastrique et l'efficacité des substances cholinomimétiques et anticholinergiques.

Si l'on essaie d'expliquer, dans le cadre de la théorie de Lieber, les divergences enregistrées parmi les résultats présentés ici, il faut admettre que cette « activité antisécrétoire distincte de l'activité anticholinergique » serait plus importante, dans la plupart des situations expérimentales, pour l'atropine et le N-méthyl scopolammonium que pour le N-butyl scopolammonium, mais qu'elle serait inférieure pour les deux premières substances dans le cas de la stimulation insulinique du Rat. Cela paraît très curieux! En outre, il faudrait également admettre que cette « activité indépendante » se trouve être justement proportionnelle à l'activité anticholinergique pour le N-méthyl scopolammonium et l'atropine puisque ces deux substances présentent toujours des doses d'équi-activité antisécrétoire dans le même rapport (1/4) que celui qui a été établi lors des études réalisées in vitro.

C'est pourquoi nous pensons, comme Schofield & al. (1974) que *l'activité antisécrétoire des anticholinergiques ne peut pas s'expliquer par une action non spécifique absolument indépendante de leur activité anticholinergique.*

FIGURE 60

Recherche des activités adrénolytiques, ganglioplégiques et vagolytiques du N-méthyl scopolammonium, après injection par voie intraveineuse chez le Chat anesthésié

L'administration du produit ne modifie pas les contractions de la membrane nictitante provoquée par l'injection d'adrénaline ou l'excitation électrique de la fibre préganglionnaire orthosympathique; il n'exerce donc pas, à la dose de 1 mg/kg, d'effets adrénolytiques, ni ganglioplégiques.

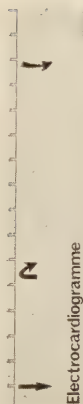
En revanche, l'hypotension consécutive à l'excitation électrique du nerf vague disparaît, ce qui confirme l'effet anticholinergique de la substance.

N.-B. — Les valeurs portées sur la courbe relative à la pression artérielle indiquent la P.A. moyenne (mmHg), sauf lorsque celle-ci se trouve modifiée par une excitation pharmacologique; dans ce cas, la valeur figurant sur la courbe représente la différence entre la P.A. enregistrée et la P.A. moyenne (mmHg).

Exc. vagale
(5V, 50 Hz, 5 sec.)

Injection
d'Adrenaline
(2 µg/kg I.V.)

Exc. pré-gg.
(cervical sup.)
(2V, 6 Hz, 10 sec.)



Electrocardiogramme



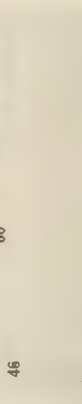
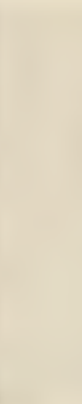
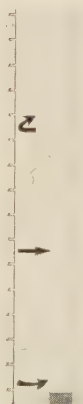
Pression artérielle
(carotide)



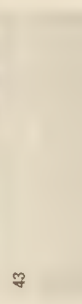
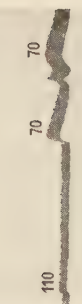
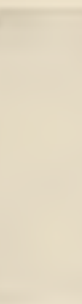
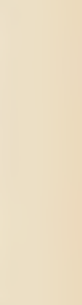
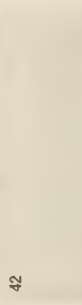
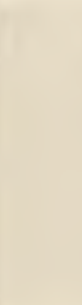
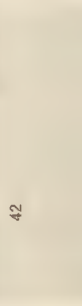
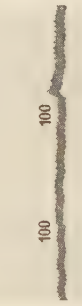
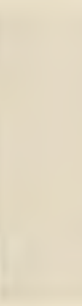
Contractions de
la membrane
nictitante

Chat A, ♂, 2 kg

Injection de
N-METHYL-SCOPOLAMINE
(1 mg/kg I.V.)



Chat B, ♂, 1.6 kg



IV.C.₄ — DIFFÉRENCES DES MÉTABOLISMES DE L'ATROPINE
ET DES N-MÉTHYL ET N-BUTYL SCOPOLAMMONIUMS EXPLIQUANT
LES DIVERGENCES D'ACTIVITÉS OBSERVÉES IN VIVO.

Des travaux récents (Werner & Schmidt H.L., 1968; Werner & Schmidt K.H., 1968) ont permis la détermination de la structure des métabolites de l'atropine et de la scopolamine. Shindo & al. (1971) ont procédé à des autoradiographies de souris traitées par le N-méthyl scopolammonium et la scopolamine elle-même et ont montré qu'il y a d'importantes différences entre les produits du métabolisme des amines tertiaires et ceux des ammoniums quaternaires. La détermination de la structure des métabolites du N-méthyl scopolammonium a été réalisée par Sano & Hakusui (1974). Les auteurs comptent cinq métabolites urinaires du méthyl-scopolammonium, chez le Rat, auxquels s'ajoutent deux métabolites supplémentaires éliminés par la bile. Ils constatent que la fraction ammonium quaternaire n'est pas modifiée, et qu'une oxydation, en para, du cycle benzénique pour former des groupements hydroxy — ou méthoxy — constitue la voie principale du métabolisme de cet ammonium quaternaire.

Il semble fort peu probable que l'on puisse évoquer des différences de métabolisme pour expliquer la divergence des résultats observés, in vivo, entre, d'une part l'atropine et le N-méthyl scopolammonium, d'autre part le N-butyl scopolammonium. En effet, Sano & Hakusui insistent sur le fait que la différence des processus du métabolisme est fondamentale entre les amines tertiaires et les ammoniums quaternaires. Le métabolisme des amines tertiaires conduit à une coupure du cycle époxyde, lorsqu'il existe (scopolamine) avec formation d'un métabolite 6-hydroxy ou bien, dans le cas contraire (atropine) à une hydroxylation en 4' du cycle benzénique de l'acide tropique (figure 61).

Les processus métaboliques des ammoniums quaternaires dérivés de la scopolamine n'intéressent jamais le cycle époxyde. Il y a formation des dérivés 4'-hydroxy puis 4'-méthoxy sans que la partie ammonium quaternaire de la scopine soit jamais modifiée. On remarque que la quaternisation de la scopolamine stimule la coupure de la liaison ester et inhibe l'ouverture du cycle époxyde, mais la partie quaternisée reste elle-même absolument inchangée au cours des processus du métabolisme (figure 62).

En d'autre termes, il serait illusoire de rechercher dans les voies du métabolisme des trois substances utilisées au cours de ce travail, un rapprochement préférentiel entre l'atropine et le N-méthyl scopolammonium, qui expliquerait les divergences observées entre les potentialités de ces deux composés et celle du N-butyl scopolammonium.

FIGURE 61

Métabolisme de deux amines tertiaires

(D'après Werner G. et Schmidt K.H., 1968; Werner G. et Schmidt H.L., 1968)

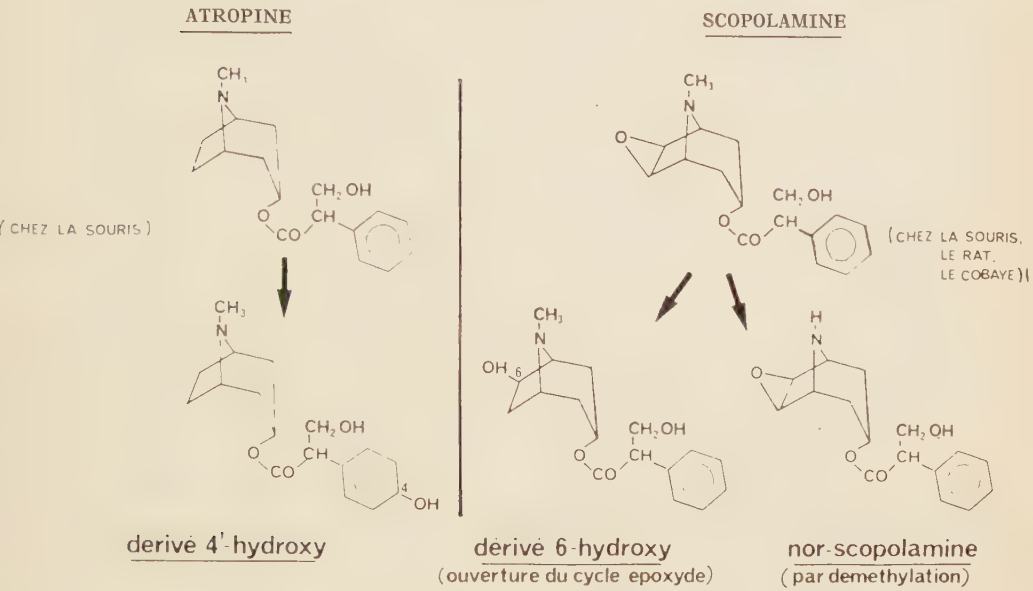
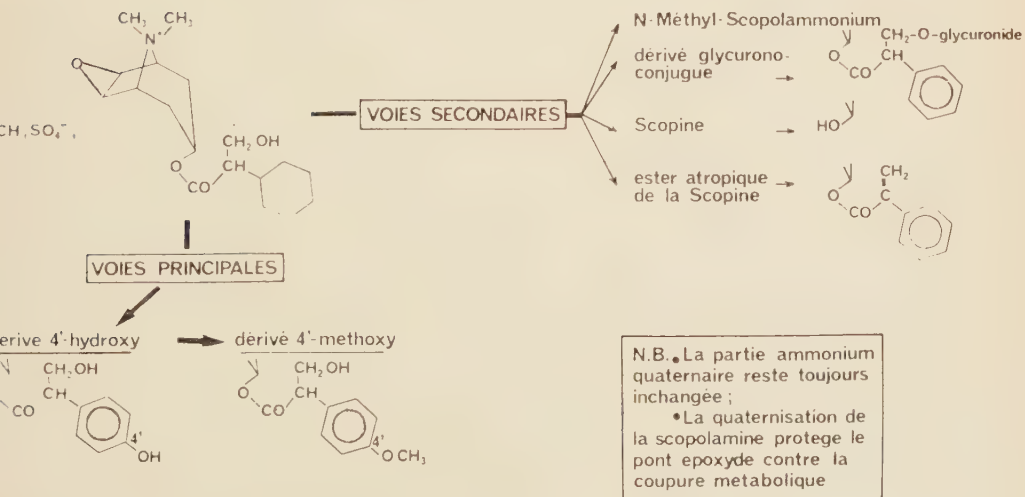


FIGURE 62

Métabolisme du N-méthyl-scopolammonium (méthylsulfate) chez le Rat

(D'après Sano M. et Hakusui H., 1974)



IV.C.₅ — APTITUDES DIFFÉRENTES, SELON LES SUBSTANCES
ANTICHOLINERGQUES, A FRANCHIR LES « BARRIÈRES BIOLOGIQUES »
ET A SE CONCENTRER DANS LA BIOPHASE SÉCRÉTOIRE.

La comparaison des possibilités de franchissement de la muqueuse digestive a été faite précédemment. Dans les situations expérimentales qui ont été retenues pour effectuer ce travail, une interférence des aptitudes de passage au niveau de la paroi du tractus digestif n'est envisageable que dans le cas d'une perfusion des solutions d'anticholinergiques dans la poche antrale (voir paragraphe IV.B.₃).

Pour toutes les autres situations expérimentales, les substances se sont trouvées administrées par voie parentérale et seule l'incidence d'un franchissement de la barrière hémato-méningée est à évoquer. Il est bien connu que les amines tertiaires passent très facilement dans le liquide céphalo-rachidien, tandis que les ammoniums quaternaires restent dans le circuit sanguin (Innes & Nickerson, 1970). D'un autre côté, Anichkov & Grechishkin (1965), bloquant la sécrétion gastrique du Chien consécutive à l'injection intracérébrale d'acétylcholine par l'administration, selon la même voie, d'un anticholinergique, interprètent ces résultats comme la preuve de la participation des structures cholinergiques cérébrales dans les mécanismes régulateurs de la sécrétion.

A la lumière de ces arguments, il est donc logique de penser qu'une substance anticholinergique, franchissant bien la barrière hémato-méningée, a plus d'aptitude pour inhiber la sécrétion gastrique qu'une substance d'égale activité anticholinergique mais dont le passage de la même barrière biologique est très difficile.

Or, l'exemple de l'atropine et du N-méthyl scopolammonium (dont les aptitudes d'action au niveau du système nerveux central sont très différentes mais qui conservent un même rapport de doses équivalentes *in vitro* et sur la sécrétion gastrique), montre qu'une hypothèse d'interprétation des distorsions observées au cours de cette étude, basée sur des différences d'aptitude au passage dans les structures de l'encéphale, semble totalement à écarter.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au moment où ce travail a été entrepris, l'activité antisécrétoire des substances parasympholytiques était, le plus souvent, directement reliée à leur capacité d'inhibition de l'action périphérique de l'acétylcholine. Néanmoins, une absence de parallélisme entre ces deux types d'activité, notée parfois par certains auteurs, était l'occasion d'évoquer soit une activité antisécrétoire supplémentaire, exercée directement sur les cellules des glandes fundiques et sans liaison avec la potentialité anticholinergique, soit un équipement en récepteurs muscariniques particulier aux cellules pariétales et principales du fundus.

Sur le plan méthodologique, lorsque l'expérimentateur cherchait à rapprocher l'activité anticholinergique de certaines substances de leur activité antisécrétoire, il exprimait la première, dans la très grande majorité des cas, par une « dose efficace à 50 p. 100 » qui ne traduisait absolument pas le caractère de l'antagonisme étudié. D'un autre côté, il évaluait la seconde activité en tenant rarement compte de l'incidence du choix de la situation expérimentale sur le résultat final.

Trois substances parasympholytiques ont été retenues pour effectuer une détermination comparative de leurs activités anticholinergique et antisécrétoire, chez le Rat et le Chien : l'atropine, substance de référence indiscutable pour la classe pharmacologique considérée, et les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums. Ces trois composés présentaient le double intérêt d'une grande parenté structurale (des squelettes carbonés rigides et superposables comportant des distances-clés identiques), allant de pair avec une nette différence au niveau d'un groupe fonctionnel, puisqu'une des substances est une amine tertiaire tandis que les deux autres sont des ammoniums quaternaires. Au début de ces travaux, le type d'antagonisme exercé par le N-méthyl scopolammonium vis-à-vis des principaux cholino-mimétiques n'avait pas été déterminé; selon les auteurs, l'action de l'atropine et celle du N-butyl scopolammonium, au niveau des récepteurs muscariniques, possédaient un caractère compétitif ou non compétitif.

Un effecteur simple, isolé des multiples régulations neuro-hormo-

nales de l'organisme se prête particulièrement bien à l'évaluation d'une activité antagoniste : l'activité anticholinergique des trois composés a donc été mesurée *in vitro*. Dans cette situation, quelles que soient les aptitudes des différentes substances à se trouver véhiculées dans les divers compartiments organiques, quelles que soient leur vitesse et leur forme de métabolisme, l'expérimentateur est assuré d'une connaissance correcte de la concentration des molécules dans la biophase des récepteurs biologiques, au moment de l'évaluation de leur activité. Parmi la multitude d'organes isolés qu'il était possible d'utiliser, *le choix s'est porté sur le jéjunum de Rat*. Cette préparation présente l'avantage de demeurer insensible aux stimulants et bloquants ganglionnaires, elle manifeste donc une sélectivité du plus grand intérêt envers les composés qui manifestent une affinité pour les récepteurs cholinergiques post-ganglionnaires.

Les techniques d'appréciation du type et de l'intensité de l'activité antimuscarinique ont été empruntées à la pharmacologie moléculaire. Les paramètres d'expression des résultats enregistrés dans ce domaine découlent des principes de la *théorie « d'occupation des récepteurs »*. Celle-ci s'est trouvée modulée par des théories complémentaires mais les coefficients d'affinité conservent la valeur d'indices sans dimension permettant la comparaison, entre elles, des substances d'une même classe pharmacologique.

Parmi les très nombreuses techniques existantes qui permettent de comparer l'activité antisécrétoire des substances à propriétés anticholinergiques, n'ont été retenues que quelques méthodes pharmacologiques s'appliquant au Rat ou au Chien vigiles, le plus souvent de mise en œuvre aisée et de pratique courante. Dans les limites du travail que l'on s'est imposées, *trois situations expérimentales sont apparues particulièrement sélectives*. L'une fait appel à une *stimulation vagale* par l'insuline ou le 2-déoxy-D-glucose; l'autre utilise la *stimulation directe de la zone antrale par des solutions sécrétagogues*; la troisième, enfin, rejette toute utilisation de substance pharmacologique stimulante, et *intéresse seulement la sécrétion gastrique entretenue chez le Rat par des stress physiques ou psychiques (ligature pylorique; fistulisation transduodéno-pylorique associée à l'immobilisation)*.

En entreprenant cette étude comparative, *le but principal recherché consistait à établir la réalité d'un parallélisme ou d'une distorsion entre l'intensité des activités anticholinergiques et antisécrétoires*; une contribution à la connaissance du mécanisme d'action de l'atropine et de deux dérivés de la scopolamine sur la fibre musculaire lisse et certaines cellules glandulaires gastriques, pouvait également être escomptée. En outre, nous pouvions espérer que les diverses déterminations réalisées permettraient d'évaluer avec précision la fluctuation des résultats en fonction des techniques utilisées, et donc de mieux apprécier la fiabilité qu'il est raisonnable d'accorder à chacune d'entre elles.

Les résultats des travaux qui viennent d'être exposés démontrent *le caractère strictement compétitif de l'antagonisme exercé aussi bien par l'atropine que par le N-méthyl scopolaminium ou par le N-butyl scopolaminium, à l'égard des cholinomimétiques directs, au niveau des récepteurs muscariniques de la musculature lisse du jéjunum de rat*. Cette conclusion préliminaire est primordiale puisqu'elle autorise la comparaison des activités anticholinergiques des trois substances par le moyen d'un seul et même paramètre, le pA_2 .

Les calculs effectués à partir des enregistrements obtenus lors des études réalisées *in vitro*, confirment, d'autre part, *le très grand écart qui sépare l'activité anticholinergique de l'atropine de celle du N-butyl scopolammonium*; ils indiquent également *que le N-méthyl scopolammonium est un anticholinergique encore plus puissant que l'atropine elle-même* : selon la méthode de calcul, l'échelle des concentrations de N-méthyl scopolammonium (méthylsulfate), d'atropine (sulfate) et de N-butyl scopolammonium (bromure), nécessaires pour exercer sur le jéjunum isolé de rat une même activité anticholinergique est, au moins de 1/1,8/93 et au plus de 1/6,2/250. L'échelle « moyenne » pondérée peut raisonnablement être représentée par la relation 1/4/100.

L'échelle des doses des trois substances, administrées par voies parentérales chez le Rat et le Chien, et nécessaires pour entraîner une équi-activité antisécrétoire, varie selon la technique expérimentale utilisée. Dans le cas de l'injection des produits par voie sous-cutanée *à des rats porteurs d'une fistulisation directe et soumis à une stimulation insulinique*, le N-butyl scopolammonium semble manifester une hyperactivité relative; l'échelle des doses équi-actives devient alors 1/4/50 et elle sort nettement des limites de fluctuations définies *in vitro*. Mais, *le plus souvent s'observe une tendance à enregistrer pour le N-butyl scopolammonium une activité antisécrétoire inférieure à celle que laissait prévoir l'intensité de son activité anticholinergique*. Par ailleurs, la synthèse des résultats des expérimentations entreprises *in vivo* met en évidence un *parallélisme frappant entre l'activité anticholinergique et les activités antisécrétoires de l'atropine et du N-méthyl scopolammonium*, et ceci quelles que soient les conditions expérimentales.

À côté de ces constatations fondamentales, les résultats rapportés confirment diverses observations relevées au cours de travaux antérieurs :

- L'acétylcholine peut être utilisée comme agoniste lors des études effectuées sur le jéjunum isolé de Rat; si l'on prend la précaution d'utiliser un milieu éseriné, les résultats des évaluations d'antagonistes compétitifs seront tout à fait comparables à ceux qui seront obtenus avec des cholinomimétiques directs non hydrolysables.

- Le carbachol exerce une interaction dualiste avec les anticholinergiques compétitifs de l'acétylcholine, et en particulier avec les dérivés de la scopolamine, ce qui n'avait pas encore été démontré. Son mécanisme d'action hypothétique, qui comporterait une composante directe et une composante indirecte, reçoit donc ici une vérification supplémentaire. Ce cholinomimétique, comme le bétanécot, peut stimuler la sécrétion d'une poche de Heidenhain, chez le Chien, sans élever par lui-même le taux de gastrine sérique.

- La libération de gastrine, provoquée par la glycine ou une solution à pH 9,2, perfusées dans une poche antrale énervée chez le Chien simultanément à des injections sous-cutanées supra-limaires de carbachol, peut être diminuée par la simple introduction préalable d'atropine, de N-méthyl ou de N-butyl scopolammoniums dans cette poche. Toutefois, ces substances, dans les conditions expérimentales qui ont été observées, n'abaissent pas le taux de gastrine sérique au-dessous d'un niveau basal permanent.

Diverses déductions pharmacologiques et physiologiques découlent des expérimentations primitives ou complémentaires qui ont été entreprises.

Dans les conditions d'administration, et selon les modèles expérimentaux qui ont été mis en œuvre, les distorsions qui ont été notées entre l'échelle des concentrations d'équi-activité anticholinergiques des trois substances et l'échelle des doses d'équi-activité antisécrétoire, ne peuvent s'expliquer ni par des équipements en récepteurs muscariniques différents, ni par une modification des caractéristiques de cooptation de ces récepteurs avec les substances à l'étude. L'origine de ces distorsions ne se trouve ni dans les différences des aptitudes de chaque produit à franchir la barrière hémato-méningée, ni dans leurs différences de métabolisme *lorsque les composés ont été administrés, in vivo, par voie parentérale. Dans ce cas, il semble plus probable que les divergences observées soient dues aux seules fluctuations expérimentales. Les causes principales de ces fluctuations proviennent probablement des variations individuelles spontanées, de l'imperfection du drainage gastrique réalisé par la canule et de la fuite pylorique d'une partie des sécrétions.*

Lors d'une perfusion prolongée de solutions d'anticholinergiques dans la poche antrale isolée du Chien, le passage de faibles quantités d'atropine et de N-méthyl scopolammonium dans la circulation générale a été démontrée. L'action systémique de ces substances se surajoutant à une action topique, paraît être la seule cause qui puisse être retenue pour expliquer la divergence des résultats relatifs à ces deux composés d'une part, au N-butyl scopolammonium d'autre part.

Les résultats considérés dans leur ensemble, infirment la théorie d'une activité « antisécrétoire cellulaire », indépendante de l'activité anticholinergique et complétant celle-ci. Dans le cadre de cette théorie, il faudrait en effet imaginer que « l'activité antisécrétoire cellulaire » est proportionnelle à l'activité anticholinergique, sauf dans quelques cas expérimentaux et pour le N-butyl scopolammonium seulement. Cela nous paraît improbable.

A l'issue de ce travail, nous pensons, au contraire, que *l'inhibition de la sécrétion gastrique du Rat et du Chien par l'atropine, les N-méthyl et N-butyl scopolammoniums, évaluée dans diverses situations expérimentales, reste la conséquence directe du seul antagonisme compétitif de ces substances avec l'acétylcholine au niveau des récepteurs muscariniques des cellules glandulaires; aucune participation d'éventuels effets non spécifiques ne peut être déduite des expérimentations réalisées. En corollaire, la conclusion de cette recherche souligne l'importance du choix des techniques et des critères d'évaluation qui doivent être retenus pour apprécier les activités anticholinergiques et antisécrétoires.*

RESUME

La détermination comparative de l'activité anticholinergique (in vitro) et antisécrétoire (chez le Rat et le Chien vigiles) a été faite pour l'atropine (A) et les N-méthyl (M.S.) et N-butyl (B.S.) scopolammoniums.

Matériels et méthodes.

— L'activité anticholinergique a été évaluée selon les principes de la théorie d'occupation des récepteurs, en utilisant le jéjunum isolé de rat. L'acétylcholine (AC) seule ou en présence d'ésérine, le furitréthonium (F) et le carbachol (C) ont été retenus comme agonistes cholinomimétiques. L'affinité des substances pour les récepteurs muscariniques a été exprimée par le pA_2 (selon van Rossum, 1963), après que le caractère compétitif de l'interaction étudiée eût été testé par la technique de Arunlakshana & Schild (1959).

— L'activité antisécrétoire a été recherchée dans trois situations expérimentales différentes :

1) La stimulation vagale (par injection d'insuline chez le Rat et le Chien et par perfusion intraveineuse lente de 2-DDG chez le Chien); dans ce cas, les animaux sont porteurs d'une fistulisation gastrique permanente, et ils reçoivent l'administration des substances anticholinergiques par voie parentérale, en même temps que le stimulant vagal.

2) La réponse sécrétoire de la poche de Heidenhain du chien à une libération de gastrine par une perfusion d'une solution de glycine ou d'une solution à pH 9,2 dans la poche antrale énervée; dans ce cas, les animaux reçoivent également, tout au long de l'expérimentation, des injections sous-cutanées de carbachol à des doses supraliminaires, répétées toutes les quinze minutes; les anticholinergiques sont perfusés en solution dans la poche antrale pendant l'heure qui précède la stimulation des cellules à gastrine.

3) La stimulation de la sécrétion gastrique du Rat par un stress physique ou psychique sans la participation d'aucune substance pharmacologique; dans ce cas, ont été utilisées les techniques de la ligature pylorique et de la fistulisation transduodéno-pylorique chez l'animal placé en situation de contrainte; les substances anticholinergiques sont alors administrées par voie parentérale dès le début de l'expérimentation.

Résultats.

— A. M.S. et B.S. sont des antagonistes strictement compétitifs des cholinomimétiques directs.

— Les pA_2 , paramètres d'affinité pour les récepteurs muscariniques, varient selon les expérimentations, de 8,19 à 9,03 pour A; de 8,62 à 9,50 pour M.S.; de 6,31 à 7,42 pour B.S.

L'échelle des concentrations relatives de M.S./A/B.S. nécessaires pour entraîner un même effet anticholinergique in vitro varie donc de 1/1,8/93 (écart relatif minimal) à 1/6,2/251 (écart relatif maximal). L'échelle moyenne pondérée peut être située à 1/4/100.

— Dans toutes les situations expérimentales observées pour l'évaluation de l'activité antisécrétoire, les doses équivalentes de A et M.S. restent dans la proportion 1/4.

— L'échelle des doses d'équivalence est de 1/4/50 dans le cas de la stimulation insulinoïque du Rat.

— Lors de la perfusion des solutions de A, M.S. ou B.S. dans la poche antrale, le B.S. s'est révélé être d'activité inférieure à ce que laissait prévoir son activité anticholinergique; dans cette situation, il a été montré que les trois substances diminuaient la libération de gastrine consécutive à la stimulation antrale par un alcalin ou un sécrétagogue, pour ramener le taux de gastrine sérique à son niveau basal permanent.

Conclusions.

1) Un parallélisme frappant s'observe constamment entre l'activité anticholinergique et l'activité antisécrétoire, pour A et M.S.

2) Dans certaines situations expérimentales, une distorsion apparaît entre ces deux activités, pour B.S.

3) AC peut être employée comme agoniste, sans que les résultats de calcul des pA_2 soient différents de ceux qui proviennent de l'utilisation de F.

4) C exerce une interaction dualiste avec les antimuscariniques compétitifs; ce cholinomimétique peut stimuler la sécrétion d'une poche de Heidenhain chez le Chien, sans élever le taux de gastrine sérique.

5) L'introduction de A, M.S. et B.S. dans la poche antrale provoque une chute de la réponse sécrétoire de la poche fundique, par inhibition de la libération de gastrine, et en plus, pour A et M.S., par action systémique après passage en faible quantité dans la circulation générale.

6) Après administration des substances par voie parentérale, les distorsions qui sont éventuellement enregistrées entre l'échelle des concentrations d'équivalence anticholinergique et l'échelle des doses d'équivalence antisécrétoire ne peuvent s'expliquer que par les seules fluctuations expérimentales.

7) L'inhibition de la sécrétion gastrique du Rat et du Chien par A, M.S. et B.S., dans les conditions expérimentales précisées précédemment, reste la conséquence directe du seul antagonisme compétitif exercé par ces substances à l'égard de l'acétylcholine. Aucune activité antisécrétoire « cellulaire », indépendante de la précédente, ne peut être évoquée pour expliquer les résultats obtenus.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBOTT D.D., GENNAO A.R. & ROSSI G.V. (1965). — Relationship of antral motility to gastrin activity in surgically prepared dogs. — *J. pharm. Sci.*, **54**, 1713-1718.
- ABRAMSON F.B., BARLOW R.B., MUSTAFA M.G. & STEPHENSON R.P. (1969). — Relationships between chemical structure and affinity for acetylcholine receptors. — *Brit. J. Pharm.*, **37**, 207-233.
- ACCARY J.P. & BONFILS S. (1971). — Le dosage radio-immunologique de la gastrine. — *Biol. Gastroentérol.*, **1**, 79-91.
- AGUILLAUME C. (1970). — Influence de vagolytiques sur les hémorragies digestives provoquées par la phénylbutazone (Etude chez le rat). — *Thèse Méd.*, n° 17, Clermont-Ferrand, pp. 102.
- ALPHIN R.S. & WARD J.W. (1967). — Actions of hexopyrronium bromide on gastric secretion in dogs and on gastric secretion and ulceration in rats. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **168**, 82-100.
- ANDERSSON S. (1960). — Inhibitory effects of hydrochloric acid in antrum and duodenum on gastric secretory responses to insulin hypoglycemia in Pavlov pouch dogs. — *Acta physiol. scand.*, **50**, 23-31.
- ANDERSSON S. (1966). — Vagal and antral influences on the action of gastrin. In: Gastrin. Proc. Conference held in September, 1964, Los Angeles, 109-137 (Ed. M.I. Grossman, Univ., California Press, Berkeley).
- ANDERSSON S. & ELWIN C.E. (1971). — Relationship between antral acidity and gastrin releasing potency of chemical stimulants. — *Acta physiol. scand.*, **83**, 437-445.
- ANDERSSON S., ELWIN C.E. & UVNAS B. (1958). — The effect of exclusion of the antrum and duodenum and subsequent resection of the antrum, on the acid secretion in Pavlov pouch dogs. — *Gastroenterology*, **34**, 636-658.
- ANDERSSON S. & GROSSMAN M.I. (1965). — Effect of vagal denervation of pouches on gastric secretion in dogs with intact or resected antrums. — *Gastroenterology*, **48**, 449-462.
- ANDERSSON S. & OLBE L. (1964 a). — Gastric acid secretory responses to gastrin and histamine in dogs before and after vagal denervation of the gastric pouch. — *Acta physiol. scand.*, **60**, 51-56.
- ANDERSSON S. & OLBE L. (1964 b). — Inhibition of gastric acid response to sham feeding in Pavlov pouch dogs by acidification of antrum. — *Acta physiol. scand.*, **61**, 55-64.
- ANICHKOV S.V. & GRECHISHKIN L.L. (1965). — Participation of central cholinergic structures in the gastric secretion regulation. — *Farmakol. Toksikol.*, **28**, 587-590.

- ARIENS E.J. (1954). — Affinity and intrinsic activity in the theory of competitive inhibition. (1) Problems and theory. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **99**, 32-49.
- ARIENS E.J. (1972). — Les récepteurs cholinergiques. In: Le système cholinergique en anesthésiologie et en réanimation, publié par G.G. NAHAS, J.C. SALAMAGNE, P. VIARS & G. VOURC'H. — Librairie Arnette (Paris), pp. 61-97.
- ARIENS E.J. & SIMONIS A.M. (1964 a). — Drug transference: drug metabolism. — *Medicinal Chemistry* (Molecular pharmacology), **1**, 53-109.
- ARIENS E.J., SIMONIS A.M. & VAN ROSSUM J.M. (1964 b). — Drug-receptor interaction: interaction of one or more drugs with one receptor system. — *Medicinal Chemistry* (Molecular pharmacology), **1**, 119-286.
- ARIENS E.J., SIMONIS A.M. & VAN ROSSUM J.M. (1964 c). — The relation between stimulus and effect. — *Medicinal Chemistry* (Molecular pharmacology), **3**, 394-490.
- ARIENS E.J., VAN OS G.A.J., SIMONIS A.M. & VAN ROSSUM J.M. (1964 d). — A molecular approach to general pharmacology. — *Medicinal Chemistry* (Molecular pharmacology), **1**, 1-3.
- ARIENS E.J. & SIMONIS A.M. (1967). — Cholinergic and anticholinergic drugs, do they act on common receptors? — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 842-868.
- ARIENS E.J., VAN ROSSUM J.M. & SIMONIS A.M. (1957). — Affinity, intrinsic activity and drug relations. — *Pharmacol. Rev.*, **9**, 218-236.
- ARIENS E.J., VAN ROSSUM J.M. & KOOPMAN P.C. (1960). — Receptor reserve and threshold phenomena. I — Theory and experiments with autonomic drugs tested on isolated organs. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **127**, 459-478.
- ARMITAGE A.K. & ING H.R. (1954). — Structure-action relations of para-sympathomimetic furan compounds. — *Brit. J. Pharmacol.*, **9**, 376-400.
- ARUNLAKSHANA O. & SCHILD H.O. (1959). — Some quantitative use of drug antagonists. — *Brit. J. Pharmacol.*, **14**, 48-58.
- BACHIRACH W.H. (1953). — Action of insulin hypoglycemia on motor and secretory functions of the digestive tract. — *Physiol. Rev.*, **33**, 566-592.
- BACHRACH W.H. (1958). — Anticholinergic drugs. Survey of the literature and some experimental observations. — *Am. J. dig. Dis.*, **3**, 743-799.
- BARBOT P. (1964). — Etude de l'activité de quelques spasmolytiques et anesthésiques locaux sur la musculature dorsale d'*Hirudo medicinalis*. — *Thèse Doct. Univ. Méd. Pharm., Clermont-Ferrand*, pp. 71.
- BARLOW R.B., FRANKS F.M., PEARSON J.D.M. & BUTT A.A. (1972). — A comparison of the affinities of antagonists for acetylcholine receptors in the ileum, bronchial muscle, and iris of the guinea-pig. The effects of different recording conditions, on the estimates of affinity constants of antagonists for acetylcholine receptors in the guinea-pig ileum. — *Brit. J. Pharmacol.*, **46**, 300-314.
- BARLOW R.B., SCOTT K.A. & STEPHENSON R.P. (1963). — An attempt to study the effects of chemical structure on the affinity and efficacy of compounds related to acetylcholine. — *Brit. J. Pharmacol.*, **21**, 509-522.
- BAUER R. & WICK H. (1969). — Comparative spasmolytic potencies of atropine sulphate and N-butyl hyosine bromide following intravenous injection, injection into a mesenteric vein, and intra-duodenal instillation. — *J. Pharm. Pharmacol.*, **21**, 706-708.
- BAUME P.E., NICHOLLS A., BARNETT R.A. & ROOM R.A. (1966). — Rat gastric acid secretion in response to graded subcutaneous doses of 2-deoxy-D-glucose. — *Am. J. Physiol.*, **211**, 626-628.
- BEBBINGTON A. & BRIMBLECOMBE R. (1965). — Muscarinic receptors in the peripheral and central nervous system (Review). — *Advances in drug research*, **2**, 143-172 (Ed. N.J. Harper, A.B. Simmonds, Academic Press, London).
- BECKER H.D., REEDER D.D. & THOMPSON J.C. (1973 a). — The effect of atropine on basal and food stimulated serum gastrin levels in man. — *Gastroenterology*, **64**, 694.
- BECKER H.D., REEDER D.D. & THOMPSON J.C. (1973 b). — The effect of changes in antral pH on the basal release of gastrin. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **143**, 238-240.

- BECKETT A.H. (1967). — Stereospecificity in the reactions of cholinesterase and the cholinergic receptors. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 675-688.
- BEDI B.S., DEBAS H.T., GILLESPIE G. & GILLESPIE I.E. (1971). — Effect of bile salts on antral gastrin release. — *Gastroenterology*, **60**, 256-262.
- BEERMANN B., HELLSTROM K. & ROSEN A. (1971). — Uptake in the human small intestine of a quaternary anticholinergic compound (Acabel). — *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **3**, 93-96.
- BEERMANN B., HELLSTROM K. & ROSEN A. (1972). — Gastrointestinal absorption of certain anticholinergic drugs. — *Eur. J. clin. Pharmacol.*, **5**, 87-92.
- BEERMANN B., HELLSTROM K. & ROSEN A. (1973). — The effect of long-term administration on the absorption of methylscopolamine in man. — *Acta med. scand.*, **193**, 35-38.
- BEERS W.H. & REICH E. (1970). — Structure and activity of acetylcholine. — *Nature* (London), **228**, 917-922.
- BEL A., LEVRAT R., NESMOZ J. & GIRARD M. (1966). — Nouvelle technique de fistule gastrique chronique chez le rat. — *J. Med. Lyon*, n° spécial, p. 5-12.
- BELLEAU B. (1964). — The chemical basis for cholinomimetic and cholinolytic activity. A molecular theory of drug action based on induced conformational perturbations of receptors. — *J. Med. Chem.*, **7**, 776-784.
- BENJAMIN F.B., ROSIÈRE B.A. & GROSSMAN M.I. (1960). — A comparison of the effectiveness of banthine and atropine in depressing gastric acid secretion in man and in the dog. — *Gastroenterology*, **15**, 727-735.
- BENNETT A. (1965). — Effect of gastrin on isolated smooth muscle preparations. — *Nature* (London), **208**, 170-173.
- BONFILS S., ROSSI G. & LAMBLING A. (1958). — Etude de la sécrétion gastrique du rat par fistule duodénale. — *Rev. fr. Et. Clin. biol.*, **III**, **9**, 977-981.
- BORELLA L.E. & HERR F. (1971). — A new method for measuring gastric acid secretion in unaesthetized rats. — *Gastroenterology*, **61**, 345-356.
- BORSY J., ANDRASTI F. & VESZELI T. (1970). — Antagonization of some physiological effects of pentagastrin. — *Acta physiol. Acad. Sci. hung.*, **37**, 184-185.
- BOWMAN W.C., RAND M.J. & WEST G.B. (1968). — Textbook of Pharmacology. Blackwell, Oxford.
- BREMER A. (1959 a). — Contribution à l'étude des mécanismes de stimulation de la sécrétion acide de l'estomac. — *Acta gastroent. belg.*, **22**, 389-424.
- BREMER A. (1959 b). — Contribution à l'étude des mécanismes de stimulation de la sécrétion acide de l'estomac. — *Acta gastroent. belg.*, **22**, 467-526.
- BREMER A. & DUBOIS A. (1963). — Effets du blocage instantané des nerfs vagues sur la sécrétion acide de l'estomac chez le chien éveillé. — *J. Physiol. (Paris)*, **55**, 210-211.
- BRODIE D.A. (1966 a). — The mechanism of gastric hyperacidity produced by pylorus ligation in the rat. — *Amer. J. dig. Dis.*, **11**, 231-241.
- BRODIE D.A. (1966 b). — A comparison of anticholinergic drugs on gastric secretions, gastric emptying, and pupil diameter in the rat. — *Gastroenterology*, **50**, 45-50.
- BRODIE D.A. & KUNDRATS S.K. (1965). — Effects of drugs on gastric emptying in the rat. — *Fed. Proc.*, **24**, 714.
- BROOKS F.P. (1967). — Central neural control of acid secretion. In: Handbook of physiology. Sect. 6: Alimentary Canal. Ed. C.F. Code. Williams & Wilkins, Baltimore, **II**, 805-826.
- BROOKS A.M., STENING G.F. & GROSSMAN M.I. (1971). — Effect of gastric vagal denervation on inhibition of acid secretion by secretin. — *Am. J. dig. Dis.*, **16**, 193-202.
- BROWN D.M. (1963). — Assay of atropine-like drugs for inhibition of gastric secretion in the pyloric ligated (Shay) rat. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **145**, 489-497.
- BURROWS L., WILDSTEIN W., DREILING D.A. & KARK A.E. (1964). — A simplified technique for the preparation of a vagally innervated (Pavlov) gastric pouch. — *J. Surg. Res.*, **4**, 147-150.

- CAHEN R.L. & TVEDE K. (1952). — Homatropine methylbromide: a pharmacological reevaluation. — *J. Pharmacol. exp. Therap.*, **105**, 166-176.
- CARRIER G.O., LEZARD Y. & ZIEGLER A. (1973). — Differences in dose-response curves obtained by cumulative and non-cumulative technique. — *Arch. Pharm.*, **277**, R 9.
- CAUJOLLE F., CHANH P.H. & LAPOUJADE M.M. (1968). — Etude de l'action du sulfate de beryllium sur la musculature lisse. — *Agressologie*, **9**, 603-607.
- CAUJOLLE F., PHAM-HUU-CHANH, NGUYEN-DAT-XUONG, AZUM-GELADE M.C. & PHUNG-VAN-TO (1969). — Structure chimique et activité spasmodique de l'acétamide et de certains de ses dérivés. — *Agressologie*, **10**, 399-404.
- CHIOU C.Y. & LONG J.P. (1969). — Studies of cholinergic inhibition using the guinea-pig ileum. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **182**, 269-278.
- CLARK A.J. (1926). — The reaction between acetylcholine and muscle cells. — *J. Physiol. (London)*, **61**, 530-547.
- CLARK A.J. & LUBS J.W. (1917). — KCl-HCl solutions. — *J. Bacteriol.*, **2**, 1.
- CODE C.F. (1951). — The inhibition of gastric secretion, a review. — *Pharmacological Reviews*, **3**, 59-106.
- CODE C.F., BLACKBURN C.M., LIVERMORE G.R. & RATKE H.V. (1949). — A method for the quantitative determination of gastric secretory inhibition. — *Gastroenterology*, **13**, 573-588.
- COLARD M. (1956). — Action des hormones stéroïdes et de l'ACTH sur la sécrétion gastrique du rat à pylore ligaturé. — *Acta gastroenterol. belg.*, **19**, 718.
- COLIN-JONES D.G. & HIMSWORTH R.L. (1969). — The secretion of gastric acid in response to a lack of metabolizable glucose. — *J. Physiol. (London)*, **202**, 97-109.
- COLIN-JONES D.G. & HIMSWORTH R.L. (1970). — The location of the chemoreceptor controlling gastric acid secretion during hypoglycaemia. — *J. Physiol. (London)*, **206**, 397-409.
- CONNEL A.M., HILL R.A., MACLEOD I.B., SIRCUS W. & THOMPSON C.G. (1968). — Effect of S.C. 15396 on gastric secretion. — *Gut.*, **9**, 641-654.
- CRANE R. & WILSON T.H. (1958). — In vitro method for the study of the rate of intestinal absorption of sugars. — *J. appl. Physiol.*, **12**, 145-146.
- CROXATTO R. & HUIDOBRO F. (1956). — Fundamental basis of the specificity of pressor and depressor amines in their vascular effects. V. Theoretical fundamentals; drug receptor linkage. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **106**, 207-243.
- CSENDES A., WALSH J.H. & GROSSMAN M.I. (1972). — Effects of atropine and of antral acidification on gastrin release and acid secretion in response to insulin and feeding in dogs. — *Gastroenterology*, **63**, 257-263.
- DAVIS R.A. & BROOKS F.P. (1962). — Variability of gastric secretory response to insulin hypoglycemia in fistulous beagle dogs. — *Am. J. Physiol.*, **202**, 1070-1072.
- DAVIS R.A., BROOKS F.P. & ROBERT C.M. Jr (1965). — Gastric secretory response to graded insulin hypoglycemia. — *Am. J. Physiol.*, **208**, 6-8.
- DEBIOIS G. & BREMER A. (1963). — Effets de la dénervation vagale de l'antre sur l'activité sécrétoire de l'estomac chez le chien éveillé. — *Arch. int. Physiol. Bioch.*, **71**, 408-418.
- DELORY G.E. & KING E.J. (1945). — Buffer solutions. — *Biochem. J.*, **39**, 245.
- DE VITO R.V. & HARKINS H.N. (1959). — Techniques in Heidenhain pouch experiments. — *J. appl. Physiol.*, **14**, 138-139.
- DOMINO E.F. & CORRSSEN G. (1967). — Central and peripheral effects of muscarinic cholinergic blocking agents in Man. — *Anesthesiology*, **28**, 568-574.
- DOSS J. & VAN ZWIJTEN P.A. (1971). — The character of the cholinergic receptors that are involved in the production of gastric acid. — *Acta pharmacol. toxicol.*, **29**, 66.
- DOSS J. & VAN ZWIJTEN P.A. (1972). — Cholinergic receptors involved in the production of gastric acid. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **197**, 245-260.
- DOTEVALL G., SCHRODER G. & WALAN A. (1964). — Anticholinergics in the management of peptic ulcer. — *Svenska Läkartidn.*, **61**, 1458-1464.

- DRETHER R., WESDORF R.I.C. & FISCHER J.E. (1974). — Release of gastrin from isolated perfused gastric antra. — *Gastroenterology*, **66**, 686.
- DUBRASQUET M., LEWIN M., BERNADES P. & BONFILS S. (1969). — Le rythme de la sécrétion gastrique nocturne du rat à pylore lié. — *C.R. Soc. Biol.*, **163**, 1279-1282.
- DUCHÊNE-MARULLAZ P., CONSTANTIN M. & TALVARD J. (1970). — Influence de quelques anticholinergiques sur les hémorragies digestives provoquées par la phénylbutazone. — *C.R. Soc. Biol.*, **164**, 324-327.
- DUCHÊNE-MARULLAZ P., CONSTANTIN M., TALVARD J. & LABRID C. (1971). — Effets de quelques anticholinergiques sur les saignements gastriques induits par la phénylbutazone. — *J. Pharmacol.* (Paris), **2**, 98.
- DUCHÊNE-MARULLAZ P., DELORT P. & HACHE J. (1968). — De l'efficacité de quelques vagolytiques administrés par voie orale. — *Thérapie*, **23**, 547-552.
- DUCHÊNE-MARULLAZ P., LABRID C., DURENG G. & BAISSAT J. (1974). — La suppression du rebond acide gastrique chez le chien beagle, critère d'évaluation de l'activité de quelques anticholinergiques. — *J. Pharmacol.* (Paris), **5**, 173-183.
- DUCHÊNE-MARULLAZ P., LABRID C., DURENG G. & TALVARD J. (1972). — Inhibition, chez le rat, du rebond d'acidité gastrique par quelques vagolytiques. Comparaison des effets systémiques et locaux. — *Biol. Gastroenterol.*, **5**, 239-248.
- DUCHÊNE-MARULLAZ P. & VACHER J. (1962). — Limites de la méthode de Magnus dans l'appréciation d'un anticholinergique. — *C.R. Soc. Biol.*, **156**, 1634-1636.
- DUCHÊNE-MARULLAZ P., VACHER J. & VALENTI F. (1965). — Comparaison de la durée de l'effet vagolytique de quelques antispasmodiques chez le chien non narcosé. — *Thérapie*, **20**, 343-347.
- DURBIN R.P. & THORPE C.D. (1970). — Inhibition by atropine of acid secretion stimulated by acetylcholine, histamine and gastrin in isolated frog gastric mucosa. — *Gastroenterology*, **58**, 944.
- DURENG G., LAMBERT J. & LABRID C. (1973). — Détermination de la précision avec laquelle peut être exprimée une DE 50 d'activité anticholinergique sur l'iléon isolé de cobaye. — *Ann. pharm. fr.*, **31**, 759-768.
- DUTT B. & MAGEE D.F. (1972). — Pepsin secretion by Heidenhain pouches in dogs. — *Am. J. Physiol.*, **223**, 480-483.
- EHRENPREIS S. (1967). — Possible nature of the cholinergic receptor. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 720-734.
- EHRHART G., HAERTFELDER G. & SCHMITT K. (1970). — Anticholinerge Wirkungen in Abhängigkeit von der chemischen Konstitution einer Reihe von tertiären und quartären Propylamin-Derivaten. — *Arzn. Forsch.*, **20**, 1094-1096.
- EISENBERG M.M., EMAS G.S. & GROSSMAN M.I. (1966). — Comparison of the effect of 2-deoxy-D-glucose and insulin on gastric acid secretion in dogs. — *Surgery*, **60**, 111-117.
- ELWIN C.E. (1962). — Stimulation of gastric acid secretion caused by introduction of different chemical agents in the isolated antrum. XXII^e International Congress of physiological Sciences, vol. II. Excerpta Med. Foundation, p. 388.
- ELWIN C.E. (1969). — Some factors influencing the stimulatory effect of ethanol on gastric acid secretion during antrum application. — *Acta physiol. scand.*, **75**, 12-27.
- ELWIN C.E. & NILSSON G. (1963). — Comparison of the effect on gastric acid secretion of some protein compounds releasing gastrin. — *Acta physiol. scand.*, **59**, suppl. 213-237.
- ELWIN C.E. & UVNAS B. (1966). — Distribution and local release of gastrin. In : Gastrin. (Ed. M.I. Grossman, Butterworths, London), p. 69-82.
- EMAS S., VAGNE M. & GROSSMAN M.I. (1969). — Heidenhain pouch response to antral stimulation before and after antral denervation in dogs. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **132**, 1162-1166.
- FAROOQ O. & WALSH J.H. (1974). — Atropine increases serum gastrin response to insulin in Man. — *Clin. Res.*, **22**, 171 A.
- FRANKO B.V., ALPHIN R.S., WARD J.W. & LUNDSFORD D. (1962). — Pharmacodynamic evaluation of glycopyrrolate in animals. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **99**, 131-149.

- FURCHGOTT R.F. (1966). — The use of β -Haloalkylamines in the differentiation of receptors and in the determination of dissociation constants of receptor-agonist complexes. — *Advances in Drug Research*, **3**, 21-56 (Ed. N.J. Harper, A.B. Simmonds, Academic Press, London).
- FURCHGOTT R.F. & BURSZTYN P. (1967). — Comparison of dissociation constants of relative efficacies of selected agonists acting on para-sympathetic receptors. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 882-898.
- GADDUM J.H. (1937). — The quantitative effects of antagonistic drugs. — *J. Physiol. (London)*, **89**, 7 P - 9 P.
- GADDUM J.H. (1957). — Symposium on drug antagonism. Theories of drug antagonism. — *Pharmacol. Rev.*, **9**, 211-218.
- GANGULI P.C. & HUNTER W.M. (1972). — Radio-immuno-assay of gastrin in human plasma. — *J. Physiol. (London)*, **220**, 499-510.
- GEIST R.E., JONES R.S. & HALL A.D. (1970). — Comparison of dose-response relations of insulin and 2-deoxy-D-glucose (2 DDG) for biliary and gastric acid secretion in dogs. — *Clin. Res.*, **18**, 173.
- GILLESPIE I.E. & GROSSMAN M.I. (1962). — Effect of acid in pyloric pouch on response of fundic pouch to injected gastrin. — *Am. J. Physiol.*, **203**, 557-559.
- GOLDBERG M.E. & ROSSI G.V. (1960). — The effect of anticholinergic compounds on several components of gastric secretion in pylorus-ligated rats. — *J. amer. pharm. Ass. (Sci. Ed.)*, **49**, 543-547.
- GOLDENBERG M.M. & BURNS R.H. (1968). — Effect of atropine on parasympathetic responses of the gastro-intestinal tract of the dog. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **174**, 342.
- GOMER S.K., ISAACSON E.I., BROW R.G. & DELGADO J.M. (1968). — Synthesis of xanthoxime and pyridine 3-aldoxime esters and ethers as potential anticholinergics. — *J. pharm. Sci.*, **57**, 1586-1590.
- GOYER G.R., GAGNE J., SALVADOR R.L. & SIMON D. (1968). — Etude pharmacodynamique de quelques esters acétyléniques. — I - Etude in vitro sur l'iléon de cobaye. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **175**, 99-109.
- GRAHAME G.R., GARRETT J.M. & HIRSCHOWITZ B.I. (1968). — 2-Deoxyglucose and histamine effects on gastric motility and secretion in the dog. — *Am. J. Physiol.*, **215**, 243-248.
- GRAMATICA L., ACCARY J.P., NASCA S., MIGNON M. & BONFILS S. (1973 a). — Correlation studies between serum gastrin and acid secretion in dogs with colonic antral transplantation. — *Gastroenterology*, **64**, 736.
- GRAMATICA L., NASCA S., MIGNON M., ACCARY J.P. & BONFILS S. (1973 b). — Effets de la sécrétine exogène sur la stimulation gastrinique endogène chronique de la poche de Heidenhain chez le chien. — *Biol. Gastroenterol.*, **6**, 76-77.
- GREGORY R.A. (1958). — Gastric secretory response after portal venous ligation. — *J. Physiol. (London)*, **144**, 123-137.
- GREGORY R.A. & IVY A.C. (1941). — The humoral stimulation of gastric secretion. — *Quart. J. exp. Physiol.*, **31**, 111-128.
- GREGORY R.A. & TRACY H.J. (1958). — Secretory response of denervated gastric pouches. — *J. Physiol. (London)*, **143**, 85-86.
- GREMY F. & SALMON D. (1969). — Bases statistiques pour la recherche médicale et biologique. — Ed. Dunod. (Paris).
- GROSSMAN M.I. (1961). — Stimulation of secretion of acid by distention of denervated fundic pouches in dogs. — *Gastroenterology*, **41**, 385-390.
- GIUDICELLI J.F. (1971). — Calcul des pAx. Fiche technique n° 16. — *J. Pharmacol. (Paris)*, **2**, 373-380.
- HEATHCOTE B.V., DALY D.W. & GILLESPIE I.E. (1965). — Secretory response before and after vagal denervation of a gastric pouch. — *Gastroenterology*, **48**, 463-471.
- HENDERSON P.Th., ARIENS E.J. & SIMONIS A.M. (1968 a). — Differentiation of various types of cholinergic and other spasmogenic actions on the isolated guinea-pig ileum. — *Europ. J. Pharmacol.*, **4**, 62-70.

- HENDERSON P.Th., ARIENS E.J., ELLENBROEK B.W.J. & SIMONIS A.M. (1968 b). — Acetylcarbacholine and acetylsilicocholine: directly or indirectly acting cholinergic spasmogens? — *J. Pharm. Pharmacol.*, **20**, 26-35.
- HERZ A., TESCHEMACHER H., HOFSTETTER A. & KURZ H. (1965). — The importance of lipid solubility for the central action of cholinolytic drugs. — *Int. J. Neuropharmacol.*, **4**, 207-218.
- HIMSWORTH R.L. & COLIN-JONES D.G. (1969). — Factors which determine the gastric secretory response to 2-deoxy-D-glucose. — *Gut.*, **10**, 1015-1019.
- HIRSCHOWITZ B.I. (1966). — Characteristics of inhibition of gastric electrolyte secretion by insulin. — *Am. J. dig. Dis.*, **11**, 183-198.
- HIRSCHOWITZ B.I. (1967). — Continuing gastric secretion after insulin hypoglycemia despite glucose injection. — *Am. J. dig. Dis.*, **12**, 19-25.
- HIRSCHOWITZ B.I. & O'LEARY D.K. (1964). — Dose dependence of insulin stimulated gastric secretion. — *Am. J. dig. Dis.*, **9**, 379-397.
- HIRSCHOWITZ B.I. & SACHS G. (1965). — Vagal gastric secretory stimulation by 2-Deoxy-D-glucose. — *Am. J. Physiol.*, **209**, 452-460.
- HIRSCHOWITZ B.I. & SACHS G. (1969). — Atropine inhibition of insulin, histamine and pentagastrin stimulated gastric electrolyte and pepsin secretion in the dog. — *Gastroenterology*, **56**, 693-702.
- HOLMSTEDT B. (1967). — Mobilization of acetylcholine by cholinergic agents. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 433-458.
- HOLTZ A., WAHLSTROM G. & WIDERLOV E. (1970). — Kvantitativ förändrade effekter vid upprepad peroral tillförsel av metylskopolamin. — *Läkartidningen*, **67**, 103.
- HOMER L.D. (1967). — A mathematical model of the equilibrium distribution of chemical complexes and the biological effects of chemical binding. — *Acta biotheor.*, **17**, 125-138.
- HUDGINS P.M. & STUBBINS J.F. (1969). — Pharmacologic evaluation of a new series of cholinergic antagonists containing an agonist moiety. — *J. Pharmacol. exp. Therap.*, **166**, 237-242.
- ING H.R., KORDIK P. & TUDOR-WILLIAMS D.P.H. (1952). — Structure-action relations of the choline group. — *Brit. J. Pharmacol.*, **7**, 103-108.
- INNES I.R. & NICKERSON M. (1970). — Drugs inhibiting the action of acetylcholine on structure innervated by postganglionic parasympathetic nerves (antimuscarinic or atropinic drugs), p. 524-548. In: *The pharmacological basis of Therapeutics* — Fourth edition (Ed. L.S. Goodman & A. Gilman, The Mac Millan Co. London).
- IVY A.C. & JAVOIS A.J. (1925). — Contributions to the physiology of gastric secretion. V - The stimulation of gastric secretion by amino-acids. — *Am. J. Physiol.*, **71**, 591-603.
- JACOB L.S. & GERO A. (1973). — Studies on the muscarinic receptor: pH dependence of the action of some cholinergic drugs on the guinea-pig ileum. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **204**, 306-315.
- JOHANSSON I., LUNDELL L. & SVENSSON S.E. (1971 a). — Inhibition of gastrin-induced gastric secretion by atropine in innervated and denervated pouches in the conscious rat. — *J. Physiol. (London)*, **215**, 38-39.
- JOHANSSON I., LUNDELL L. & SVENSSON S.E. (1971 b). — Inhibition of gastric secretion by atropine in conscious rats. — *J. Physiol. (London)*, **217**, 723-735.
- JOHNSON A.N., COBO A., OBERHELMAN H.A. & DRAGSTEDT L.R. (1960). — Inhibition of gastric secretion by acid in the antrum. — *Surg. Forum*, **10**, 155-160.
- JORDAN P.H. (1957). — A study of the gastric antrum as an inhibitor of gastric juice production. — *Surgery*, **42**, 40-49.
- JOW E., WEBSTER D.R. & SKORYNA S.C. (1960). — Effects of glucagon and insulin on gastric secretion in rats. — *Gastroenterology*, **38**, 732-739.
- JULOU L., DUCROT R., DETAILLE J.Y., BARDONE M.C., GUYONNET J.C. & PASQUET J. (1967). — Etude des propriétés pharmacologiques du [dibenzo (a, d) cycloheptadiényl-5]-4-diméthyl-1, 1-pipérazinium, méthylsulfate (14336 R.P., méthylsulfate). — *C.R. Soc. Biol.*, **161**, 1911-1916.
- JUSKO W.J. & LEVY G. (1967). — Absorption, metabolism and excretion of riboflavin-5' phosphate in man. — *J. pharm. Sci.*, **56**, 58-62.

- KAESS H. (1971). — Moderne Verfahren zur Untersuchung der Magenfunktion. Seminar für klinische Pharmakol. (Reisensburg - 25 bis 29/10 1971.)
- KAO HWANG (1956). — Pharmacological background of modern anticholinergic drugs. — *Am. J. Gastroenterol.*, **26**, 56-63.
- KAPLAN S.A. & COILER S. (1972). — Use of cannulated everted intestinal sac for serial sampling as a drug absorbability (permeability) screen. — *J. pharm. Sci.*, **61**, 1361-1365.
- KASAHARA A., KOJIMA H., ONODERA T., HASHIZUME T., YAMASAKI T., TAWARA K. & CHIBA T. (1971). — Pharmacological properties of methylscopolammonium methyl sulfate. — *Folia Pharmacol. jap.*, **67**, 100-124.
- KAYE M.D. (1969). — Further observations upon gastric function in rats after prolonged administration of an anticholinergic drug, propantheline bromide. — *Am. J. dig. Dis.*, **14**, 770-781.
- KIER L.B. (1967). — Molecular orbital calculation of preferred conformations of acetylcholine, muscarine and muscarone. — *Mol. Pharmacol.*, **3**, 487-494.
- KIRSNER J.B., LEVIN E. & PALMER W.L. (1953). — The effect of newer anticholinergic drugs upon gastric secretion in man. — *Gastroenterology*, **23**, 199-218.
- KOELLE G.B. (1970). — Parasympathomimetic agents. In: The pharmacological basis of therapeutics, p. 466-477. (Ed. L.S. Goodman & A. Gilman, Mac Millan Co. New York.)
- KOMAROV S.A., BRALON S.P. & BOYD E. (1963). — A permanent rat gastric fistula. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **112**, 451-453.
- KONTUREK S.J. (1968). — Effect of graded doses of pentagastrin, histamine and 2-Deoxy-D-glucose on gastric secretion and motility in conscious rats. — *Scand. J. Gastroenterol.*, **3**, 572-576.
- KORMAN M.G., SOVENY C. & HANSKY J. (1971). — Serum gastrin in duodenal ulcer. — *Gut.*, **12**, 899-902.
- KOROLKOVAS A. (1970). — Essentials of molecular pharmacology. Background for drug design. — Wiley, New York, pp. 339.
- KOSHLAND D.E. Jr. (1958). — Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis. — *Proc. nat. Acad. Sci.*, **44**, 98-105.
- KOWALEWSKI K. (1964). — Effect of prolonged administration of an anticholinergic drug on gastric secretion of rats, mice and hamsters. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **152**, 404-407.
- KOWALEWSKI K. (1967). — Effect of a long-term treatment with and anticholinergic drug on gastric secretion in rats. — *Am. J. dig. Dis.*, **12**, 988-993.
- KOWALEWSKI K. & CHMURA G. (1969). — A method permitting prolonged and repeated studies of rats gastric secretions. — *Arch. int. Physiol. Biochem.*, **77**, 10-16.
- KOWALEWSKI K. & KASPER T. (1967). — Achlorhydria, gastric mucosal atrophy and gastric neoplastic lesions in rats, mice and hamsters treated with an anticholinergic drug, propantheline bromide, and a carcinogen 20-methylcholanthrene. — *Canad. J. Surg.*, **10**, 99-108.
- KUBIN R.H., KIELER W.R. & KLOTZ A.P. (1967). — Non parallel gastric and salivary gland inhibition produced by anticholinergic drugs in sham-fed dogs. — *Am. J. dig. Dis.*, **12**, 371-378.
- KUHNEN-CLAUSEN D. (1970). — Investigations on the parasympatholytic effect of toxogonin on the guinea-pig isolated ileum. — *Europ. J. Pharmacol.*, **9**, 85-92.
- LABRID C., DURENG G. & STREICHENBERGER G. (1974). — Interaction des N-méthyl et N-butyl scopolammoniums avec quelques parasympathomimétiques au niveau des récepteurs cholinergiques du jéjunum de rat. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **209**, 531-548.
- LAMBERT R. (1961). — Action de la réserpine sur la sécrétion gastrique recueillie par fistule chronique chez le rat. — *C.R. Soc. Biol.*, **155**, 2383-2387.
- LAMBLING A. & BERNIER J.J. (1964). — Etude de la sécrétion gastrique par le tubage à l'histamine. — *Ann. Chir.*, **18**, 550-553.
- LAMBLING A., HARDOUIN J.P., BONFELS S. & LAUMONIER R. (1953). — Ulcère gastrique expérimental. — *Arch. Mal. App. digestif*, **42**, 417-451.

- LANDOR J.H. & ROSS J.L. (1962). — Examination of the mechanism involved in antral inhibition of gastric secretion. — *Am. J. dig. Dis.*, **7**, 656-660.
- LANE A., IVY A.C. & IVY E.K. (1957). — Vagal gastric secretory nerves in the rat, demonstrated with insulin. — *Am. J. Physiol.*, **191**, 262-264.
- LECCHINI S., DEL TACA M., SOLDANI G., FRIGO G.M. & CREMA A. (1969). — Actions of atropine, tropenziline and N-butyl hyoscine bromide on the isolated distal colon of the guinea-pig: comparison of their activities and mechanisms of action. — *J. Pharm. Pharmacol.*, **21**, 662-667.
- LEE Y.H. & THOMPSON J.H. (1968). — Inhibition of gastric secretion in the rat by S.C. 15396. — *Europ. J. Pharmacol.*, **3**, 366-369.
- LEE Y.D. & THOMPSON J.H. (1969). — Response of rats with chronic gastric fistulas to subcutaneous injections of histamine, ICI-50123 and insulin. — *Am. J. dig. Dis.*, **14**, 14-29.
- LEHY T. & DUBRASQUET M. (1972). — The secretory histologic and histochemical effects of acute and subchronic administration of atropine sulfate on the gastric mucosa of the rat. — *Am. J. dig. Dis.*, **17**, 887-901.
- LEVINE R.R., McNARY W.F., KORNGUTH P.S. & LEBLANC R. (1970). — Histological reevaluation of everted gut technique for studying intestinal absorption. — *Eur. J. Pharmacol.*, **9**, 211-219.
- LICK R.F., BRUCKNER W., BECK H. & HART W. (1967). — Wirkung von Atropin auf die stimulierte Magensekretion bei Ratten, Sekretionsstudien an Shay-Praeparationen. — *Med. Klin.*, **62**, 414-417.
- LIEBER C.S. (1957). — Etude comparative de l'action inhibitrice de l'atropine et de deux parasympholytiques de synthèse sur la sécrétion gastrique. — *Ann. Soc. roy. Sci. med. nat. (Bruxelles)*, **10**, 209-335.
- LIM R.K.S. & MOZER P. (1950). — Mechanism of excitation of internal secretion of pylorus and adenteric reflex. — *Am. J. Physiol.*, **163**, 730.
- LIMBOSCH J.M. (1972). — Contribution à l'étude de la stimulation vagale et gastrique de la sécrétion gastrique chez le chien et chez l'homme. — Thèse, Université libre (n° 44), Bruxelles, pp. 258.
- LIN T.M., EVANS D.C. & SPRAY G.F. (1973). — Action of glucagon on electrolyte changes in the stomach, kidney and blood of dogs stimulated by penta-gastrin or histamine. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **202**, 304-313.
- LONGHI E.H., GREENLEE H.B., BRAVO J.L., DELGADILLO GUERRERO J. & DRAGSTED L.R. (1957). — Question of an inhibitory hormone from the gastric antrum. — *Am. J. Physiol.*, **191**, 64-70.
- LULLMANN H. & ZIEGLER A. (1968). — Estimation of the cholinergic receptor occupation in guinea-pig isolated atria by means of ¹⁴C-labelled arecaine derivatives. — *Europ. J. Pharmacol.*, **5**, 71.
- MACKAY D. (1966 a). — A new method for the analysis of drug-receptor interactions. *Advances in drug research*, **3**, 1-19. (Ed. N.J. Harper, A.B. Simmonds, Academic Press, London.)
- MACKAY D. (1966 b). — The mathematics of drug receptor interactions. — *J. Pharm. Pharmacol.*, **18**, 201-222.
- MADDEN R.J., RAMSBURG H.H. & HUNDLEY J.M. (1951). — A critical study of the Shay rat. — *Gastroenterology*, **18**, 119-127.
- MAENGWYN-DAVIES G.D. & OROSZLAN S.I. (1967). — Complex Formation. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 831-835.
- MAKHLouF G.M., McMANUS S.P.A. & KNILL S.R. (1968). — Quantitative aspects of synergism and inhibition of gastric acid secretion. — *Gastroenterology*, **54**, 532-537.
- MASEVICH T.G., FISHZON RYSS Y.I. & MIKHAILICHENKO O.I. (1974). — Analysis of atropine action on the partial components of gastric secretion (en russe). — *Terapevt. Arkh.*, **46**, 90-93.
- MIGNON M. & BONFILS S. (1967). — Technique de construction d'une poche de Heidenhain chez le chien. — *Presse med.*, **75**, 2337-2339.
- MIGNON M. & BONFILS S. (1971). — Exigences méthodologiques et critères d'efficacité dans l'étude des antisécrétoires gastriques. — *Thérapie*, **26**, 1123-1134.

- MIGNON M., LIMBOSCH J.M., WYLLIE J.H., RHEAULT M.J. & NYHUS L.M. (1966). — Effects of calcium infusion on gastric secretion in Heidenhain pouch dogs. — *Scand. J. Gastroenterol.*, **1**, 124-131.
- MIGNON M., VARRO V., VATIER J. & BONFILS S. (1971). — Stimulation des sécrétions gastriques acide et peptique par administration intraveineuse lente de 2-DDG chez le chien. — *Biol. Gastroentérol.*, **4**, 317-324.
- MISHER A. & BROOKS F.P. (1966). — Electrical stimulation of hypothalamus and gastric secretion in the albino rat. — *Am. J. Physiol.*, **211**, 403-406.
- MITCHELL J.F. (1963). — The spontaneous and evoked release of acetylcholine from the cerebral cortex. — *J. Physiol. (London)*, **165**, 98-226.
- MONOD J. (1966). — The mechanism of molecular interactions in the control of cellular metabolism. — *Endocrinology*, **78**, 412-425.
- MONOD J., WYMAN J. & CHANGEUX J.P. (1965). — On the nature of allosteric transitions in a plausible model. — *J. molec. Biol.*, **12**, 88-118.
- MOZSIK G., BERSTAD A., MYREN J. & SETEKLEIN J. (1969). — Absorption and urinary excretion of oxyphenyclimine HCl in patients before and after a prolonged oxyphenyclimine treatment. — *Med. exp.*, **19**, 10-16.
- MOZSIK G., NAGY L., KUTAS J. & TARNOK F. (1972). — The mediating mechanism of cholinergic neural effects in the human gastric mucosa. — *Acta Physiol. Acad. Sci. hung.*, **41**, 413-414.
- NAKAJIMA S., NAKAMURA M. & MAGEE D.F. (1969). — Effect of secretin on gastric acid and pepsin secretion in response to various stimuli. — *Am. J. Physiol.*, **216**, 87-91.
- NASCA S., DUBRASQUET M., BONNEFOND A. & BONFILS S. (1971). — Inhibition par l'atropine de la sécrétion gastrique du rat stimulée par la gastrine exogène ou endogène. — *Biol. Gastroentérol.*, **4**, 333-338.
- NORGAARD R.P., POLTER D.E., WHEELER J.W. Jr & FORDTRAN J.S. (1970). — Effect of long term anticholinergic therapy on gastric acid secretion, with observations on the serial measurement of peak Histalog response. — *Gastroenterology*, **58**, 750-755.
- NORTHROP J.H. & KUNITZ W. (1948). — *Cristalline enzymes* (2nd Ed.). — Columbia Univ. Press, New York.
- NYHUS L.M., CHAPMAN N.D., DE VITO R.V. & HARKINS H.N. (1960). — The control of gastrin release: an experimental study illustrating a new concept. — *Gastroenterology*, **39**, 582-589.
- ODORI Y. & MAGEE D.F. (1969). — The pharmacological action of gastrin-pentapeptide. — *Experientia*, **25**, 169-170.
- OLATUNDE I.A. (1970). — Quantitation of the degree of antagonism of chloroquine to histamine, acetylcholine and serotonin (pA₂ values). — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **185**, 66-70.
- OLBE L. (1963). — Significance of vagal release of gastrin during the nervous phase of gastric secretion in dogs. — *Gastroenterology*, **44**, 463-468.
- OLBE L. (1964 a). — Potentiation of sham feeding response in Pavlov pouch dog by subthreshold amounts of gastrin with and without acidification of denervated antrum. — *Acta physiol. scand.*, **61**, 244-254.
- OLBE L. (1964 b). — Effect of resection of gastrin releasing regions on acid response to sham feeding and insulin hypoglycemia in Pavlov pouch dogs. — *Acta physiol. scand.*, **62**, 169-175.
- OLBE L. (1966). — Vagal release of gastrin. In: *Gastrin - Proceedings. Conference held in september 1964, Los Angeles.* (Ed. M.I. Grossman, Univ. California Press, Berkeley, p. 83-107.)
- OLBE L. & ELWIN C.E. (1965). — Effect of tobacco smoking and nicotine on gastric acid secretion in dogs. Tobacco alkaloids and related compounds, p. 273-276. (Ed. U.S. von End, Pergamon Press, New York.)
- OLBE L. & ELWIN C.E. (1966). — Mechanisms stimulating antral release of gastrin. *Postgraduate gastroenterology*, p. 140-151. (Ed. T.J. Thompson, I.E. Gillespie, Baillière, Tindal, Cassel, London.)
- PACHECO H. (1973). — *La Pharmacologie Moléculaire*. Ed. P.U.F., Paris.

- PASCAUD X.B. & DEVYS M.M. (1973). — Un ou plusieurs récepteurs de sécrétion gastrique chez le rat. — *Biol. Gastroenterol.*, **6**, 279-280.
- PASSARO E.P. Jr & GROSSMAN M.I. (1964). — Effect of vagal innervation on acid and pepsin response to histamine and gastrin. — *Am. J. Physiol.*, **206**, 1068-1076.
- PATON W.D.M. (1967). — Kinetic theories of drug action with special reference to the acetylcholine group of agonists and antagonists. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 869-879.
- PATON W.D.M. & RANG H.P. (1965). — The uptake of atropine and related drugs by intestinal smooth muscle of the guinea-pig in relation to acetylcholine receptors. — *Proc. roy. Soc. Med.*, **163**, 1-44.
- PATON W.D.M. & RANG H.P. (1966). — A kinetic approach to the mechanism of drug action. — *Advances in Drug Research*, **3**, 57-80. (Ed. N.J. Harper, A.B. Simmonds, Academic Press, London.)
- PEDERSON R.A. & BROWN J.C. (1972). — Inhibition of histamine, pentagastrin, and insulin-stimulated canine secretion by pure gastric inhibitory polypeptide. — *Gastroenterology*, **62**, 393-400.
- PE THEIN M. & SCHOFIELD B. (1959). — Release of gastrin from the pyloric antrum following vagal stimulation by sham feeding in dogs. — *J. Physiol. (London)*, **148**, 291-305.
- PEVSNER L. & GROSSMAN M.I. (1955). — The mechanism of vagal stimulation of gastric acid secretion. — *Gastroenterology*, **28**, 493-499.
- PIERCE J.S. (1960). — Antispasmodics and anti-ulcer drugs. In : *Medicinal Chemistry*, 2nd. (Ed. A. Burger, Interscience Publishers, Inc., New York), p. 463-493.
- POMARET J.C., SERGANT-ODY M., POURRIAS B. & HUGUET G. (1969). — Différenciation des pouvoirs atropinique et papavérinique au sein d'une même série de carbalcoxy-1 éthylamino-4 pipérazines. — *Thérapie*, **24**, 109-143.
- POMEROY A.R. & RAPER C. (1973). — Effect of atropine on responses to directly and indirectly acting cholinomimetics. — *Europ. J. Pharmacol.*, **21**, 286-292.
- POSEY E.L. Jr., BOLER K. & POSEY L. (1969). — Inhibition of food-stimulated gastrin release by a topical anesthetic, oxethazaine. — *Am. J. dig. Dis.*, **14**, 797-800.
- POSEY E.L., BOLER K. & POSEY L. (1971). — Inhibition of acetylcholine stimulated gastrin release by the topical anesthetic, oxethazaine. — *Am. J. Gastroenterol.*, **55**, 54-57.
- POSEY E.L., SMITH P., TURNER C. & ALDRIDGE J. (1965). — Effects of anticholinergics, antacids, and antrectomy on gastrin production and relation of antral motility to gastrin release. — *Am. J. dig. Dis.*, **10**, 399-410.
- PRATESI P., VILLA L., FERRI V., GRANA E. & SOSSI D. (1969). — Molecular properties and anti-muscarinic activity in some series of quaternary ammonium salts. — *Farmaco*, Ed. Sci., **24**, 313-328.
- PRESHAW R.M. (1970). — Gastric acid output after sham feeding and during release or infusion of gastrin. — *Am. J. Physiol.*, **219**, 1409-1416.
- RANG H.P. (1967). — The uptake of atropine and related compounds by smooth muscle. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 756-767.
- RANG H.P. & RITTER J.M. (1969). — A new kind of drug antagonism : evidence that agonists cause a molecular change in acetylcholine receptors. — *Mol. Pharmacol.*, **5**, 394-411.
- REDFORD M. (1963). — Pharmacological investigation of the gastrin release mechanism. — *Biochem. pharmacol.*, **12**, suppl. 130.
- RENIER E. & BOISSIER J.R. (1969). — Propriétés pharmacologiques de quelques ammoniums quaternaires phénacylés. I - Dérivés de la choline et de l'acétylcholine. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **180**, 402-412.
- REY A. et BARBE J. (1967). — Etude in vitro des relations structure/activité des drogues muscariniques. Première partie. — *Prod. Prob. pharm.*, **22**, 861-866.
- REY A. & BARBE J. (1968). — Etude in vitro des relations structure/activité des drogues muscariniques. Deuxième partie. — *Prod. Prob. pharm.*, **23**, 96-102.
- ROBELET A., BIZARD-GREGOIRE N., BIZARD J., DESMONS F. & LAUDE F. (1968). — Action antispasmodique de l' α méthyl tropate de tropine. — *Thérapie*, **23**, 601-607.

- ROBERTSON C.R. & GROSSMAN M.I. (1948). — Potentiation of the gastric secretory response to histamine by parasympathomimetic drugs. — *Fed. Proc.*, **7**, 103.
- ROBERTSON C.R., LANGLOIS K., MARTIN C.G., SLEZAK G. & GROSSMAN M.I. (1950). — Release of gastrin in response to bathing the pyloric mucosa with acetylcholine. — *Am. J. Physiol.*, **163**, 27-33.
- RUDICK J., SEMB L.S. & NYHUS L.M. (1967). — The preparation and maintenance of gastric pouches. Techniques of gastric pouch preparations in dogs. — *J. surg. Res.*, **7**, 383-398.
- RUDICK J., WERTHER J.L., CHAPMAN M.L. & JANOWITZ H.D. (1970). — Ionic flux across the gastric mucosa: effects of atropine on the permeability of fundus and antrum. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **135**, 605-608.
- SAINT-BLANQUAT G. (de), MITJAVILA S. & DERACHE R. (1968). — Valeur comparée de deux méthodes d'études de la sécrétion gastrique chez le rat sous l'effet de l'éthanol: « perfusion » de l'estomac et ligature du pylore. — *Thérapie*, **23**, 1317-1326.
- SANO M. & HAKUSUI H. (1974). — Metabolism of methylscopolammonium methylsulfate (DD-234) in rats. — *Chem. pharm. Bull.*, **22**, 696-706.
- SAVINI E.C., MOULIN M.A., PARIENTE G.F. & HERROU M. (1967). — Le sultroponium (A. 118), un nouvel anticholinergique. — *Thérapie*, **22**, 843-852.
- SAXENA P.R. & BONTA I.L. (1970). — Mechanism of selective cardiac vagolytic action of Pancuronium bromide. Specific blockade of cardiac muscarinic receptors. — *Europ. J. Pharmacol.*, **11**, 330-341.
- SCHILD H.O. (1947). — pA, a new scale for the measurement of drug antagonism. — *Brit. J. Pharmacol.*, **2**, 189-206.
- SCHOFIELD B. (1966). — Inhibition by acid of gastrin release. In: Gastrin. (Ed. M.I. Grossman, Univ. of California Press, Berkeley), p. 171-192.
- SCHOFIELD B., DAVISON J.S., FAHRNER P.C. & TEPPERMAN B.L. (1974). — Role of cholinergic nerve stimulation in the acid response to gastrin. — *Gastroenterology*, **66**, 773.
- SELHUB J., BRIN H. & GROSSWICZ N. (1973). — Uptake and reduction of radioactive folate by everted sacs of rat small intestine. — *Eur. J. Biochem.*, **33**, 433-438.
- SHAPIRA D. & STATE D. (1961). — The role of the antrum in intragastric acid inhibition. — *Gastroenterology*, **41**, 16-23.
- SHAY H., KOMAROV S.A., FELS S.S., MERANZE D., GRUENSTEIN M. & SIPIET H. (1945). — A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. — *Gastroenterology*, **5**, 43-61.
- SHAY H., SUN D.C.H. & GRUENSTEIN M. (1954). — A quantitative method for measuring spontaneous gastric secretion in the rat. — *Gastroenterology*, **26**, 906-913.
- SHEA S.M. (1956). — Inhibition of gastric secretion in rats by some quaternary derivatives of atropine. — *Brit. J. Pharmacol.*, **11**, 171-174.
- SHINDO H., TAKAHASHI I. & NAKAJIMA E. (1971). — Autoradiographic studies on the distribution of drugs. I - Distribution of ¹⁴C-anisotropine methobromide in mice. — *Chem. pharm. Bull.*, **19**, 513-522.
- SHULMAN A., LAYCOCK G.M., ARIENS E.J. & WIGMANS R.H. (1970). — The action of selected metal complexes on receptor systems of isolated organs. Part. I - The action of selected ruthenium (II) phenanthroline chelates on the cholinergic mechanism of the rat intestine and guinea-pig ileum. — *Europ. J. Pharmacol.*, **9**, 347-357.
- SJODIN L. & NILSSON G. (1973). — Gastric acid secretion and plasma gastrin levels during urecholine infusion in the dog. — *Acta physiol. scand.*, **89**, suppl. 396, p. 63.
- SNEDECOR G.W. (1956). — Statistical methods. 5th Ed. — Iowa State College Press. Ames, p. 251-253.
- SPENCER J. (1973). — Gastric secretion in the isolated stomach of the guinea-pig. — *J. Physiol. (London)*, **237**, P 1 - P 3.
- SPENCER J. & GROSSMAN M.I. (1970). — Inhibition of gastric acid secretion by insulin and 2-Deoxy glucose. — *Gastroenterology*, **58**, 1052.

- SPENCER J. & GROSSMAN M.I. (1971). — The gastric secretory response to insulin : an all-or-none phenomenon. — *Gut*, **12**, 891-896.
- STENING G.F. & GROSSMAN M.I. (1970 a). — Gastric acid response to pentagastrin and histamine after extragastric vagotomy in dogs. — *Gastroenterology*, **59**, 364-371.
- STENING G.F. & GROSSMAN M.I. (1970 b). — Effect of partial vagotomy in the neck or lower thorax on insulin stimulated acid secretion in dogs. — *Gastroenterology*, **59**, 376-379.
- STEPHENSON R.P. (1956). — A modification of receptor theory. — *Brit. J. Pharmacol.*, **11**, 379-393.
- STROM G. & UVNAS B. (1948). — The effect of atropine, scopolamine and some related synthetic drugs on the insulin induced gastric secretion of the dog. — *Acta physiol. scand.*, **15**, 6-10.
- STUBBINS J.F., HUDGINS P.M., ANDRAKO J. & BEEBE A.J. (1968). — Anticholinergic agents based on Ariens' dual receptor site theory. — *J. pharm. Sci.*, **57**, 534-535.
- SUNAHARA F.A. & HERR F. (1970). — Pharmacology of an antispasmodic agent pentapiperide methylsulfate. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **184**, 287-299.
- SUND R.B. (1970). — Estimation of atropine and some anticholinergics chemically related to atropine on the isolated rat jejunum. — *Acta pharmacol. toxicol.*, **28**, suppl. 1, 84.
- TAKAGI K., TAKAYANAGI I. & MAEZIMA Y. (1968). — An analysis of the sites of action of some partial agonists. — *Europ. J. Pharmacol.*, **3**, 52-57.
- TAKAGI K., TAKAYANAGI I. & TAGA F. (1970). — Partial agonists and acetylcholine liberation. — *Europ. J. Pharmacol.*, **10**, 57-63.
- TAMM J., VOLKWEIN V. & VOIGT K.D. (1967). — Dose response of gastric secretion and electrolyse output in pylorus ligated rats to insuline hypoglycemia. — *Experientia*, **23**, 300-302.
- TAYLOR D.B., CREECE R., LU T.C. & CASE R. (1967). — Uptake of labeled transmitter analogs and their blockade by antagonists. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **144**, 768-771.
- THOMPSON J.C. (1962). — The inhibition of gastric secretion by the duodenum and by the gastric antrum; a review. — *J. surg. Res.*, **2**, 236-251.
- THOMPSON J.C., DAVIDSON W.D., MILLER J.H. & DAVIS R.E. (1964). — Suppression of gastrin stimulated gastric secretion by the antral chalone. — *Surgery*, **56**, 861-867.
- THRON C.D. (1973). — On the analysis of pharmacological experiments in terms of an allosteric receptor model. — *Mol. Pharmacol.*, **9**, 1-9.
- TROIDL H. (1973). — Augmentation of pentagastrin stimulated gastric secretion in the Heidenhain pouch dog by amodiaquine : inhibition of histamine methyltransferase in vivo. — *Ag. Actions*, **3**, 157-167.
- TYRODE M.V. (1910). — A new physiological salt solution. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **20**, 205.
- UVNAS B., ANDERSSON S., ELWIN C.E. & MALM A. (1956). — The influence of exclusion of the antrum duodenum passage on the HCl secretion in Pavlov pouch dogs. — *Gastroenterology*, **30**, 790-803.
- VAGNE M., FARGIER M.C., DESVIGNE A., CHAYVIALLE J.A. & LAMBERT R. (1973). — Effet de la pentagastrine et de la carbaminoylcholine sur la sécrétion acide du rat de Shay (rat à pylore lié). — *Thérapie*, **28**, 683-687.
- VAGNE M. & GROSSMAN M.I. (1969). — Gastric and pancreatic secretion in response to gastric distention in dogs. — *Gastroenterology*, **57**, 300-310.
- VAN ROSSUM J.M. (1962). — Pharmacodynamics and parasympathetics drugs. Mechanism of action and structure action relationship of tertiary ammonium salts. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **140**, 592-605.
- VAN ROSSUM J.M. (1963). — Cumulative dose-response curves. II - Technique for the making of dose-response curves in isolated organs, and the evaluation of drugs parameters. — *Arch. int. Pharmacodyn.*, **143**, 299-330.
- VAN ROSSUM J.M. (1966). — Limitations of molecular pharmacology. Some implications of the basic assumptions underlying calculations on drug-receptors

- interaction and the significance of biological drug parameters. — *Advances in Drug Research*, **3**, 189-234. (Ed. N.J. Harper, A.B. Simmonds, Academic Press, London.)
- VARRO V., KISS J. & MIGNON M. (1971). — Potentiation of gastric acid response to increasing doses of pentagastrin by subthreshold dose of metacholine in Heidenhain pouches dogs. — *Biol. Gastroenterol.*, **2**, 169-174.
- VARRO V., MIGNON M., SHIMAZU I. & BONFILS S. (1969). — Action du 2-Deoxy-D-glucose sur la sécrétion gastrique du chien. — *Biol. Gastroenterol.*, **2**, 109-116.
- WALSH J.H., YALOW R.S. & BERSON S.A. (1971). — The effect of atropin on plasma gastrin response to feeding. — *Gastroenterology*, **60**, 16-21.
- WELSCH K.H., KLEMPA J., BALSER D. & HART W. (1969). — Wirkung der 2-Deoxy-D-glucose auf die Magensekretion. — *Z. Gastroenterol.*, **7**, 457-463.
- WERNER G. & SCHMIDT H.L. (1968). — The metabolism of tropane alkaloids. VI - Chemical analysis of atropine metabolism by the mouse. — *Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.*, **349**, 677-691.
- WERNER G. & SCHMIDT K.H. (1968). — Metabolism of tropane alkaloids. VIII - Chemical analysis of (—) scopolamine metabolism in several mammals. — *Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.*, **349**, 741-752.
- WILLIAMS C.B. & ROFFEST A.P.M. (1969). — Effect of antral acidification on acid secretion induced by meat and pentagastrin. — *Gastroenterology*, **57**, 399-405.
- WOODWARD E.R., LYON E.S., LANDOR J. & DRAGSTEDT L.R. (1954). — The physiology of the gastric antrum; experimental studies in isolated antrum pouches in dogs. — *Gastroenterology*, **27**, 766-785.
- WOODWARD E.R., ROBERTSON C., RUTTENBERG H.D. & SCHAPIRO H. (1957 a). — Alcohol as a gastric secretory stimulant. — *Gastroenterology*, **32**, 727-737.
- WOODWARD E.R., ROBERTSON C., FRIED W. & SCHAPIRO H. (1957 b). — Further studies on the isolated gastric antrum. — *Gastroenterology*, **32**, 868-877.
- WOODWARD E.R. & SCHAPIRO H. (1958). — Effect of local anesthetics on the isolated antrum of the stomach in dogs. — *Am. J. Physiol.*, **192**, 479-481.
- WORMSLEY K.G. & GROSSMAN M.I. (1964). — Inhibition of gastric acid secretion by secretin and by endogenous acid in the duodenum. — *Gastroenterology*, **47**, 72-81.
- WULFERT E. (1969). — La pharmacologie moléculaire. — *Atomes*, **24**, 276-282.
- WYMAN J. (1967). — Allosteric linkage. — *J. am. chem. Soc.*, **89**, 2202-2218.
- YALOW R.S. & BERSON S.A. (1970). — Radioimmunoassay of gastrin. — *Gastroenterology*, **58**, 1-14.
- YAMAGUCHI I., NAKAHIRA Y., MORT J., HONDA F., KUMADA S. & NISHIZAKI H. (1973). — Gastric secretion and cholinergic innervation of the stomach. — *Jap. J. Pharmacol.*, **23**, suppl. 22.
-

